This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.

+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.

+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.

+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`

Über dieses Buch

Dies ist ein digitales Exemplar eines Buches, das seit Generationen in den Regalen der Bibliotheken aufbewahrt wurde, bevor es von Google im Rahmen eines Projekts, mit dem die Bücher dieser Welt online verfügbar gemacht werden sollen, sorgfältig gescannt wurde.

Das Buch hat das Urheberrecht überdauert und kann nun öffentlich zugänglich gemacht werden. Ein öffentlich zugängliches Buch ist ein Buch, das niemals Urheberrechten unterlag oder bei dem die Schutzfrist des Urheberrechts abgelaufen ist. Ob ein Buch öffentlich zugänglich ist, kann von Land zu Land unterschiedlich sein. Öffentlich zugängliche Bücher sind unser Tor zur Vergangenheit und stellen ein geschichtliches, kulturelles und wissenschaftliches Vermögen dar, das häufig nur schwierig zu entdecken ist.

Gebrauchsspuren, Anmerkungen und andere Randbemerkungen, die im Originalband enthalten sind, finden sich auch in dieser Datei – eine Erinnerung an die lange Reise, die das Buch vom Verleger zu einer Bibliothek und weiter zu Ihnen hinter sich gebracht hat.

Nutzungsrichtlinien

Google ist stolz, mit Bibliotheken in partnerschaftlicher Zusammenarbeit öffentlich zugängliches Material zu digitalisieren und einer breiten Masse zugänglich zu machen. Öffentlich zugängliche Bücher gehören der Öffentlichkeit, und wir sind nur ihre Hüter. Nichtsdestotrotz ist diese Arbeit kostspielig. Um diese Ressource weiterhin zur Verfügung stellen zu können, haben wir Schritte unternommen, um den Missbrauch durch kommerzielle Parteien zu verhindern. Dazu gehören technische Einschränkungen für automatisierte Abfragen.

Wir bitten Sie um Einhaltung folgender Richtlinien:

+ *Nutzung der Dateien zu nichtkommerziellen Zwecken* Wir haben Google Buchsuche für Endanwender konzipiert und möchten, dass Sie diese Dateien nur für persönliche, nichtkommerzielle Zwecke verwenden.

+ *Keine automatisierten Abfragen* Senden Sie keine automatisierten Abfragen irgendwelcher Art an das Google-System. Wenn Sie Recherchen über maschinelle Übersetzung, optische Zeichenerkennung oder andere Bereiche durchführen, in denen der Zugang zu Text in großen Mengen nützlich ist, wenden Sie sich bitte an uns. Wir fördern die Nutzung des öffentlich zugänglichen Materials für diese Zwecke und können Ihnen unter Umständen helfen.

+ *Beibehaltung von Google-Markenelementen* Das "Wasserzeichen" von Google, das Sie in jeder Datei finden, ist wichtig zur Information über dieses Projekt und hilft den Anwendern weiteres Material über Google Buchsuche zu finden. Bitte entfernen Sie das Wasserzeichen nicht.

+ *Bewegen Sie sich innerhalb der Legalität* Unabhängig von Ihrem Verwendungszweck müssen Sie sich Ihrer Verantwortung bewusst sein, sicherzustellen, dass Ihre Nutzung legal ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass ein Buch, das nach unserem Dafürhalten für Nutzer in den USA öffentlich zugänglich ist, auch für Nutzer in anderen Ländern öffentlich zugänglich ist. Ob ein Buch noch dem Urheberrecht unterliegt, ist von Land zu Land verschieden. Wir können keine Beratung leisten, ob eine bestimmte Nutzung eines bestimmten Buches gesetzlich zulässig ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass das Erscheinen eines Buchs in Google Buchsuche bedeutet, dass es in jeder Form und überall auf der Welt verwendet werden kann. Eine Urheberrechtsverletzung kann schwerwiegende Folgen haben.

Über Google Buchsuche

Das Ziel von Google besteht darin, die weltweiten Informationen zu organisieren und allgemein nutzbar und zugänglich zu machen. Google Buchsuche hilft Lesern dabei, die Bücher dieser Welt zu entdecken, und unterstützt Autoren und Verleger dabei, neue Zielgruppen zu erreichen. Den gesamten Buchtext können Sie im Internet unter `http://books.google.com` durchsuchen.

2044 106 401 227

J64m
cop. 2

Harvard University

FARLOW
REFERENCE LIBRARY
OF
CRYPTOGAMIC BOTANY

Farlow

Die Mikroorganismen

der

Gärungsindustrie.

Von

Alfred Jörgensen.

W. G. FARLOW.

Mit 36 Textabbildungen.

BERLIN.
VERLAG VON PAUL PAREY.
Verlagshandlung für Landwirtschaft, Gartenbau und Forstwesen.
1886.

Die Mikroorganismen

der

Gärungsindustrie.

Von

Alfred Jörgensen.

Mit 36 Textabbildungen.

BERLIN.
VERLAG VON PAUL PAREY.
Verlagshandlung für Landwirthschaft, Gartenbau und Forstwesen.
1886.

J647m
cop. 2

Alle Rechte vorbehalten.

Herrn Dr. Karl Lintner,

Professor für Chemie und Technologie, Direktor der Kgl. bayer. landwirtschaftlichen Centralschule und des Staatsgutes Weihenstephan

in aufrichtiger Verehrung

gewidmet.

Vorwort.

Als Besitzer eines Laboratoriums für Gärungstechnik, dessen Aufgabe neben den auf diesem Felde vorkommenden Analysen darin besteht, eine Anleitung zur Untersuchung der in der Gärungsindustrie vorkommenden Mikroorganismen zu geben, vermisste ich ein kurzgefasstes Handbuch in dieser Richtung, welches unter anderem dazu dienen konnte, als Leitfaden beim Unterrichte benutzt zu werden.

Das vorliegende Buch ist ein Versuch dieser Art, und mein Ziel war also wesentlich ein Supplement zu den allgemein bekannten und benutzten Lehrbüchern in den verschiedenen Zweigen der Gärungsindustrie zu geben. Unter den derartigen Werken hebe ich, als Vorbilder für gute Lehrbücher, besonders hervor: LINTNERs Lehrbuch der Bierbrauerei und MAERCKERs Handbuch der Spiritusfabrikation. Es liegt in der Natur der Sache, dass diese Bücher wesentlich vom chemischen Standpunkte aus geschrieben sind, da die historische Entwickelung bisher die Chemie in erster Linie unter den Hülfswissenschaften des Faches gestellt hat. Im letzten Dezennium trat eine neue Seite der Forschung hinzu, die botanisch-physiologische, welche schon dargethan hat, dass bedeutungsvolle Resultate für die Praxis auf diesem Wege erzielt werden können. Die Litteratur, welche hierüber vorliegt, und die Arbeit, welche gefordert wird, um sich in diese neue Forschungsrichtung hineinzuleben, sind schon so umfassend, dass sich eine Teilung der Arbeit notwendig zeigte, und es kann daher den Verfassern der vorliegenden Lehrbücher nicht zur Last gelegt werden, dass sie fortwährend dieser Seite der Sache eine ziemlich stiefmütterliche Behandlung gewährten.

Meine Bestrebungen gingen ferner darauf hin, ein populäres Buch im guten Sinne des Wortes zu geben, mit der besonderen Begrenzung, aus der überaus grossen Litteratur, welche schon entstanden ist, nur das herauszuwählen und darzustellen, was für die Kenntnis der für die Industrie wichtigsten Mikroorganismen notwendig ist. Die mannigfaltigen Theorieen und Hypothesen sollen denn hauptsächlich hier nur insofern berücksichtigt werden, als durch deren Kritik eine nützliche Lehre, welche von vielen Praktikern leider oft teuer gekauft wurde, eingeholt werden kann.

Die einleitenden Bemerkungen über die wissenschaftlichen Untersuchungsmethoden sollen aufgefasst werden: teils als vorläufige Anleitungen zu den gärungsphysiologischen Untersuchungen, teils als Auseinandersetzungen, deren Auffassung die Bedingungen für das rechte Verständnis des eigentlichen Inhaltes des Buches sein können.

Wie bekannt, liegen schon Bücher vor, in welchen die hervorragendste Litteratur über Mikroorganismen gesammelt ist. Meine Arbeit unterscheidet sich doch wesentlich von diesen dadurch, 1. dass sie nicht nur die Bacterien, sondern auch die Schimmel- und Hefenpilze behandelt und 2. dass sie, wie angegeben, ganz speziell auf die Gärungsindustrie Rücksicht nimmt.

Bei der Bearbeitung wurde die ganze neue Litteratur benutzt und selbstverständlich besonders die in mehreren Beziehungen bahnbrechenden Arbeiten, welche wir Dr. E. CHR. HANSEN (Carlsberg Laboratorium) verdanken. Unter den mannigfaltigen Mitteilungen, welche HANSEN mir im Laufe der Jahre gegeben hat, finden sich auch einige Beobachtungen, welche hier mit seiner Erlaubnis zum ersten Male publiziert werden. Ich bringe ihm hierfür meinen verbindlichsten Dank.

Kopenhagen, März 1886.

Alfred Jörgensen.

Inhalt.

	Seite
1. Kapitel: Die mikroskopische und physiologische Untersuchung . .	1— 24
2. Kapitel: Luftuntersuchungen	24— 34
3. Kapitel: Die Bacterien	34— 50
4. Kapitel: Die Schimmelpilze	50— 73
5. Kapitel: Die Alkoholgärungspilze	73—122
Einleitung (REESS, PASTEUR, NAEGELI, BREFELD u. s. w.)	73— 78
HANSENS Untersuchungen	79— 99
Systematik der Gattung Saccharomyces	99—114
Anhang: Andere Sprosspilze („Torula", „Sacch. apiculatus", „Mycoderma cerevisiae" u. s. w.)	115—122
6. Kapitel: Die Anwendung der Resultate der wissenschaftlichen Forschung in der Praxis	123—131
Litteratur	132—138

1. Kapitel.

Die mikroskopische und physiologische Untersuchung.

Das Mikroskop wird zu allen Zeiten das hervorragendste Hülfsmittel zur Untersuchung aller Mikroorganismen sein, da dieselben als Individuen fast immer für das blosse Auge unsichtbar sind. Die ersten grossen bedeutungsvollen Beobachtungen in der Gärungsphysiologie verdanken wir den rein mikroskopischen Untersuchungen, und müssen wir weit über die Mitte unseres Jahrhunderts hinausgehen, um zu sehen, dass die biologische und physiologische Untersuchung hinzutritt. Nachdem eine gewisse Wahrscheinlichkeit dafür eingetreten war, dass dieselbe Art von Mikroorganismen nicht immer in derselben Form auftritt, begann an verschiedenen Orten eine eifrige Arbeit mit sogenannten „Kulturversuchen", indem man durch künstlich hervorgebrachte Wachstumsbedingungen erstrebte, die verschiedenen Entwickelungsstufen an demselben Orte vor sich gehen zu sehen, um so sämtliche Phasen fixieren zu können. Der Gedanke war richtig, die Ausführung dagegen zu jener Zeit so verfehlt, dass die „Kulturversuche" dadurch in vollständigen Misskredit zu geraten drohten. Man ging zur Arbeit ohne jegliche Kritik, wie das folgende Beispiel zeigt: Es wurde auf einer feuchten Brotscheibe Bierhefe ausgesät; die Kultur wurde mit einer Glasglocke vorsichtig zugedeckt, und man beobachtete alle überhaupt möglichen Vorsichtsmassregeln, um die Vegetation vor von aussen eindringende Körpern zu schützen. Nach einigen Tagen entwickelte sich, wie immer auf feuchten Brotscheiben, eine Schimmelvegetation, und man zog daraus den Schluss, dass die Bierhefe der Ursprung der Schimmelformen sei, dass folglich Hefe und Schimmelpilz Entwicklungsglieder derselben Art wären. —

Es verlief eine Reihe von Jahren, bevor man die, wie es scheint, ganz selbstverständliche Forderung an derartige Untersuchungen stellte, dass man sich zuerst darüber vergewissert: von wo man ausgeht, ehe man die Schlussfolgerungen zieht. Diese Forderung wurde nach und nach schärfer präzisiert, und wir werden sehen, dass man hier auf unserem Gebiete im engsten Sinne erreichte, diesen Anspruch in höherem Grade als in den übrigen naheliegenden Wissenschaftszweigen zu befriedigen.

Zur Untersuchung der Mikroorganismen wird als Regel ein Mikroskop, welches eine Vergrösserung bis 1000fach gewährt, notwendig sein. Für die Hefenpilze und Schimmelformen besteht die ganze Präparation gewöhnlich darin, dass ein Tropfen der Flüssigkeit, worin sich die Organismen befinden, auf dem Objektglase angebracht und mittelst des Deckgläschens zu einer dünnen Schicht ausgebreitet wird. Auf festem Substrate kultiviert, wird eine sehr geringe Menge vorerst in einem Wassertropfen verteilt. Für die Bakterien muss die Untersuchung jedenfalls auch immer zuerst in dieser Weise geschehen. In der neueren Bakterienforschung und namentlich für die pathogenen Formen wird eine Menge verschiedener Eintrocknungs- und Färbungsmethoden benutzt, teils um die Beobachtung zu erleichtern, teils um Charaktere hervorzubringen, welche sonst schwierig oder gar nicht beobachtet werden können. Gegen diese Methoden wurde der ohne Zweifel berechtigte Einwand gemacht, dass die gewaltsame Einwirkung oft gewisse Verhältnisse bei den Bakterien verrückt, z. B. die Längen- und Dickenproportion. Dem gegenüber muss geltend gemacht werden, besonders hinsichtlich gewisser Krankheitsformen, z. B. des Tuberkulosebacillus, dass es zufolge der Beobachtung KOCHs erst nach einer solchen Präparation möglich war, diese Organismen sicher zu bestimmen, und die Färbung oft notwendig ist, um die Bacillen überhaupt auffinden zu können. Als Beispiel der Färbungsmethoden gehe ich etwas genauer auf die Untersuchung des Tuberkulosebacillus ein, welche zu einer der wichtigsten Beobachtungen in der neueren Medizin führte. KOCH gab für die Untersuchung folgende Methode an: Der Schnitt wird 24 Stunden in eine Mischung von 200 Teilen destillierten Wassers, 1 Teil konzentrierter alkoholischer Methylenblaulösung und 0,2 Teilen Kalilauge von 10 pCt. eingelegt.

Er ist hierdurch dunkelblau gefärbt und kommt so für 15 Minuten in eine konzentrierte wässerige Lösung von Vesuvin. Danach wird er in destilliertem Wasser abgespült, bis die blaue Farbe geschwunden und eine mehr oder weniger starke braune Tinktion zurückgeblieben ist; schliesslich wird er in Alkohol entwässert, in Nelkenöl aufgehellt und so untersucht. Die Zellkerne und die meisten Arten der Mikrokoccen sind dann braun gefärbt, die Tuberkelbacillen dagegen intensiv blau. (Unter den bekannten Bacillen verhalten sich nur die Leprabacillen ähnlich, unterscheiden sich aber in anderer Richtung von den Tuberkelbacillen.) Nach KOCHs Ansicht kam es hier auf die alkalische Reaktion der Farblösung an, da diese Bacillen in sauren oder neutralen Flüssigkeiten nie gefärbt werden; die neutrale Lösung eines anderen Farbstoffes verdrängt dann die erste Färbung überall mit Ausnahme der Tuberkelbacillen, welche die ursprüngliche Färbung behalten. — Es wurden später mehrere andere Methoden zur Bestimmung dieses Mikroorganismus aufgestellt; darunter bewährte sich die hier zu beschreibende EHRLICHsche als die vorzüglichste. Dieser Forscher verwendete statt Kalilauge das Anilin, eine schwach gelblich gefärbte, ölartige Flüssigkeit, dessen gesättigte wässerige Lösung mehr Farbstoff als die Kalilösung aufzunehmen vermag; ferner hat er mineralische Säuren zur Entfärbung benutzt, indem er von der Voraussetzung ausgeht, dass die Tuberkelbacillen von einer Hülle umgeben sind, welche nur für alkalisch reagierende Flüssigkeiten durchdringlich ist. Wenn nun durch die alkalische Farblösung Bacillen, Zellkerne, Plasma u. s. w. tingiert und die erstgenannten folglich in dieser Mischung schwer zu finden sind, so wird eine Säure die Farbe aus allen übrigen Partieen und aus allen fremden Mikroorganismen herausziehen; da die präsumierte Hülle der Tuberkelbacillen aber für die Säure undurchgängig ist, so werden diese jetzt in dem sonst völlig entfärbten Präparate als die einzigen gefärbten Körper übrig bleiben. EHRLICH führt die Färbung in folgender Weise aus: Fein pulverisiertes Gentianaviolett wird in einer gesättigten Lösung von Anilin in Wasser gelöst. Hiervon werden in ein Uhrschälchen 10—20 Tropfen abfiltriert; in das Schälchen wird die zu untersuchende Schicht etwa 24 Stunden eingelegt; hiernach wird sie mit destilliertem Wasser abgespült und danach wieder in das Schälchen mit einer Lösung von z. B.

3 Teilen Salpetersäure und 100 Teilen Alkohol eingelegt. Nach 3—5 Minuten ist der Schnitt entfärbt, das Präparat kommt jetzt in reinen Alkohol und wird endlich in Nelkenöl untersucht.

Wie bekannt, wurden in der neuesten Zeit sehr oft — zum ersten Male von R. KOCH — photographische Abbildungen der Bakterien benutzt. Um diese darzustellen, sind Färbungen und Entfärbungen ganz notwendig, teils um die Konturen der Bakterien schärfer hervortreten zu lassen, teils um alle störenden Körper vom Bilde zu entfernen.

Für gärungsphysiologische Zwecke, wo die Organismen fast immer frei liegen und nur selten mit störenden Elementen vermischt sind, sind solche Färbungen und Entfärbungen nur selten notwendig, und in wenigen Fällen führte eine Färbung zu Speziescharakteren.

Es ist dagegen bei der Untersuchung von Gärungsorganismen und namentlich der Bakterien bisweilen notwendig, eine andere Art von Präparation vorzunehmen. Die in den Flüssigkeiten auftretenden Sekrete organischer und unorganischer Natur haben oft eine täuschende Ähnlichkeit mit den verschiedenen Bakterienformen, und speziell ist es oft mit den grössten Schwierigkeiten verbunden oder auch selbst für den geübtesten Beobachter unmöglich, mit Sicherheit zu bestimmen, ob die im Gesichtsfelde liegenden kleinen kugelförmigen Körper entweder Kugelbakterien oder Sekrete der Flüssigkeit sind. Bevor man in solchen zweifelhaften Fällen zur später zu beschreibenden physiologischen Untersuchung schreitet, ist es zweckmässig, die mikrochemischen Reagentien anzuwenden, welche oft gute vorläufige Winke geben können. Im Biere und überhaupt in Nährflüssigkeiten, welche Eiweisstoffe enthalten, treten diese oft als kugelige und fadenförmige Ausscheidungen auf, und ebenso können auch die Stärkekörner und die von der Stärke gebildeten Dextrine und endlich einige der Hopfenbestandteile als feine kugelige Körper erscheinen. Ein geringer Zusatz von Alkohol, Äther, Chloroform, Essigsäure, Natron, Kali u. s. w. wird hier einige Aufklärung geben können, indem z. B. die harzartigen Stoffe von den erstgenannten Flüssigkeiten, die eiweissartigen Ausscheidungen mehr oder weniger von den letztgenannten Flüssigkeiten angegriffen werden; ein Zusatz

von Jod wird die gegenwärtigen Stärkekörner als blaue Punkte zeigen, und gewisse Dextrine werden vom Jod rötlich gefärbt.

Bei den höheren Gärungsorganismen, Hefenpilzen und Schimmelpflanzen, werden Färbungen zu einem anderen Zwecke verwendet, nämlich um darüber Kenntnis zu erhalten, welche Stoffe sich in der Wand oder dem Inhalte der Zelle auf den verschiedenen Entwickelungsstadien finden. Setzt man z. B. eine Lösung von Eisenchlorid oder einem anderen Eisensalze zu Zellen, welche Gerbsäure enthalten, dann tritt in diesen Zellen eine schwarzblaue oder grüne Färbung ein; es wurde in dieser Weise beobachtet, dass die Zellen von Saccharomyces cerevisiae im ersten Stadium der Gärung eine merkliche Menge von Gerbsäure enthalten. Werden Hefezellen mit einer Lösung von Haematoxylin oder Überosmiumsäure behandelt, dann kann man einen kleinen, scharf begrenzten, dunkel gefärbten Körper wahrnehmen, welcher als ein Zellkern von derselben Art sich deuten lässt, wie er bei der überwiegenden Mehrzahl von Pflanzen gewöhnlich ohne vorhergehende Präparation beobachtet wird.

Eine wirklich eingehende Kenntnis zu den Gärungsorganismen wird jedoch erst dann erreicht, wenn die physiologische Untersuchungsmethode hinzutritt. Wie früher angedeutet, wurden in einer jetzt zurückgelegten Periode Anstrengungen gemacht, um Methoden dieser Art hervorzubringen; der vollständige Mangel an Kritik in der Ausführung der Versuche bewirkte jedoch, dass diese gänzlich misslangen, und es trat eine Reaktion ein, welche u. a. darin einen Ausdruck findet, dass REESS in seiner Arbeit über die Ascosporen bei den Saccharomyceten (1870) ausdrücklich hervorhebt, dass er keine Vorsichtsmassregel nahm, um Reinkulturen zu erreichen — bis zu solchem Grade waren diese Kulturen in Misskredit geraten. Im Laufe der folgenden Jahre nahm jedoch die Sache eine andere Wendung, und es ist vielleicht eine beinahe einzig dastehende Thatsache in der Geschichte der Wissenschaften, dass eine neue Forschungsrichtung in so kurzer Zeit sich nicht nur den Weg gebahnt, sondern auch, sowohl auf dem pathologischen als auf unserem speziellen Gebiete schon praktische Resultate erreicht hat, welche eine Revolution in vielen bisher festgestellten Dogmen hervorgerufen haben.

Die physiologische Untersuchung der Mikroorganismen hat

zum Zweck eine Einsicht in die Entwicklung und Lebensthätigkeit dieser Wesen zu erwerben. Das Mittel dazu ist selbstverständlich, solche Bedingungen für ihr Wachstum und ihre Vermehrung herzustellen, dass man die nach und nach eintretenden Veränderungen des Organismus und der Stoffe, welche davon beeinflusst werden, wahrzunehmen vermag. Insofern man nur erstrebt, eine Kenntnis der verschiedenen Formen zu gewinnen, mit welchen der betreffende Organismus während seiner Entwickelung auftreten kann, werden die Bedingungen bedeutend leichter, als wenn man eine Kultur im grossen von Individuen, welche alle nachweislich von einer Zelle der Spezies abstammen, fordert, um durch physiologische, chemische oder rein praktische Versuche mit grösseren Mengen dieser Organismen eine Einsicht in die Relation zwischen ihren Formen und den äusseren Einwirkungen sowie in ihre ganze Lebenswirksamkeit zu erreichen. Im ersteren Falle verlangt man nur eine Kultur, in welcher der Organismus im stande ist, sich ungestört entwickeln zu können, ganz abgesehen davon, ob sich in demselben Präparate ganz fremde Individuen oder Arten finden. Im letzteren Falle dagegen wird eine absolute Reinkultur gefordert. Einige Beispiele werden dies näher beleuchten.

Einer der Naturforscher, welcher die schönsten und ausführlichsten Beiträge zur Geschichte der Schimmelpilze gegeben hat, ist BREFELD. Um sich zu vergewissern, dass er die ganze Entwickelung eines solchen Schimmelpilzes aufgeklärt hatte, fixierte er unter dem Mikroskope direkt eine Spore dieser Pflanze, brachte sie zur Keimung und folgte genau dem Wachstum der keimenden Spore, bis diese wieder Sporen hervorbrachte. Die Zellen wurden in einem Tropfen von Nährflüssigkeit verteilt, und um die Austrocknung der Flüssigkeit zu verhindern, wurde in einigen Fällen eine geringe Menge von Gelatine zugesetzt, welche gleichzeitig die kleinen Körper daran hinderte, sich so leicht zwischen einander zu verschieben, wie im dünnflüssigen Substrate. Unter dem Mikroskope wurde dann auf einer einzelnen Zelle eingestellt, und die Arbeit bestand jetzt darin mit Sorgfalt und Ausdauer alle den Veränderungen zu folgen, welche mit dieser Zelle vor sich gingen. Es war begreiflicherweise ganz gleichgültig, ob sich in anderen Partieen des Tropfens Zellen von anderer Art be-

fanden, z. B. Bakterien, sofern diese in das Wachstum des gewählten Objektes nicht störend eingriffen. Nach und nach wurden Zeichnungen der kleinen Pflanze, welche hervorwuchs, aufgenommen, und in dieser Weise sind denn die mannigfaltigen schönen Abbildungen der Schimmelpilze, welche wir diesem Verfasser verdanken, entstanden. Diese Forschung war an und für sich rein botanischer Natur. Mit der Ausnahme, dass das Mikroskop mit zu Hilfe genommen werden musste wegen der Kleinheit der Objekte, war kein Unterschied zwischen dieser Untersuchung und der Beobachtung der äusseren Wachstumsphänomene einer Blütenpflanze von der Keimung des Samens an bis zur Reife der Frucht.

Kulturen der gleichen Art können oft gute Resultate ergeben, wenn der früher erwähnte Fall vorliegt: Eine Nährflüssigkeit, in welcher Sekrete verschiedener Art eine mehr oder weniger täuschende Ähnlichkeit mit verschiedenen Bakterienformen angenommen haben, so dass man bei der allgemeinen mikroskopischen Untersuchung keine sichere Kenntnis erlangen kann. Man bringt einen Tropfen der Flüssigkeit in die sogenannte feuchte Kammer, hier RANVIERs (Fig. 1). Dieser Apparat wird dadurch hergestellt, dass in der Mitte eines gewöhnlichen Objektträgers eine sehr schwache Vertiefung geschliffen ist; um diese Vertiefung herum geht eine tiefere Furche, welche dazu bestimmt ist, Wasser aufzunehmen; der Tropfen von Nährflüssigkeit, welcher ganz klein sein muss, wird mitten in der seichten Vertiefung angebracht und mit einem Deckglase, welches über die Furche hinaus ragt, bedeckt; nach dem Auflegen wird das Deckglas mittels Vaseline festgekittet, und der Tropfen ist so zwischen dem Deckglas und der

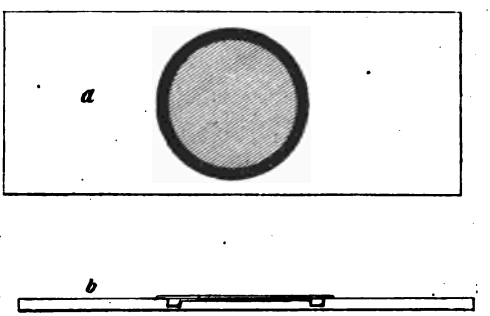

Fig. 1.
RANVIERs feuchte Kammer.
a von der Fläche, *b* von der Seite gesehen.

seichten Vertiefung des Objektträgers ausgebreitet und durch das Wasser in der Furche vor Verdunstung geschützt.

Eine andere Art von feuchten Kammern, die sogenannten BÖTTCHER'schen, werden dadurch hergestellt, dass auf einem gewöhnlichen Objektglase ein Glasring festgekittet ist. In diesem Raume werden einige Tropfen Wasser angebracht. Ein Deckglässchen, welches an der unteren Seite den kleinen Tropfen Nährflüssigkeit mit den Organismen trägt, wird am Rande des Glasringes durch Vaseline festgesetzt.

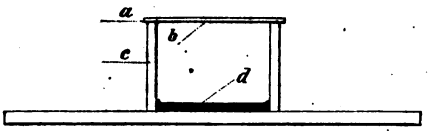

Fig. 2.
BÖTTCHERs feuchte Kammer.
a Deckgläschen, *b* Nahrungsschicht, *c* Glasring, *d* Flüssigkeit.

Man bringt nun einen solchen Apparat unter dem Mikroskope an und beobachtet von Zeit zu Zeit die Veränderungen der Körper, oder er wird in einen Warmkasten bei passender konstanter Temperatur gestellt, aus welchem in Zwischenräumen die Kultur zur mikroskopischen Durchmusterung hervorgenommen wird. Die lebenden Bakterien werden dann, wenn ihnen die Nährflüssigkeit und Temperatur zusagt, sich durch ihr Wachstum und ihre Vermehrung von dem organischen oder unorganischen Detritus unterscheiden.

Gleichzeitig damit, dass BREFELD seine oben genannten Kulturen anstellte, trat die Reform ein, und seine Arbeiten werden den wesentlichsten Gegenstand dieser Mitteilungen ausmachen. Man forderte, dass die Kulturen zu Massenkulturen entwickelt werden sollten, damit man, mit einer reinen Vegetation als Ausgangspunkt, physiologische und chemische Untersuchungen über die Entwickelung der Mikroorganismen unternehmen könne. Es sind namentlich PASTEUR, NÄGELI, KOCH und HANSEN, welche in dieser Richtung die Methode entwickelt haben, und wir werden jetzt kurz deren Hauptzüge hervorheben.

Eine jede Gärung, gleichviel ob Bier, Wein, Spiritus, Essig oder andere Stoffe erzielt werden, ist eine Kultur von lebenden Organismen, von „organisierten Fermenten", und die Bestrebungen der Fabrikanten gehen — mehr oder weniger be-

wusst — darauf hin, eine, soweit es die praktischen Verhältnisse erlauben, reine Kultur der für die Fabrikation günstigen Formen zu erreichen. Obgleich man in unserer Zeit, mit besserem Verständnisse der Mittel und der Ziele, grosse Fortschritte in dieser Richtung gemacht hat, werden sich doch gewiss immer Grenzen aufstellen lassen, welche aus rein praktischen Gründen nicht überschritten werden können: die Kulturen in der Praxis werden gewiss nie dazu kommen, dass sie „absolute Reinkulturen" sind. Es ist einer der am meisten hervorspringenden Punkte in der gegenwärtigen Entwickelung der Gärungsindustrie, dass man mit richtigem Verständnisse der Bedeutung der Gärungsorganismen als des Centralen im Betriebe nach dem Ziele hin arbeitet, in immer höherem Grade die hauptsächlich arbeitenden nützlichen Arten von der Einwirkung der schädlichen Formen zu emanzipieren. Dass hierauf das allergrösste Gewicht liegt, wurde besonders einleuchtend, da HANSEN durch die planmässig ausgewählten Rassen der Unterhefe zeigte, dass eine solche für sich entwickelte reine Vegetation eine weit grössere Sicherheit und Gleichartigkeit in den Betrieb einführt. Zu diesem Punkte werden wir später zurückkommen.

Bei den Versuchen im Laboratorium, wo es sich ebenfalls um die Entwickelung von Kulturen der Gärungsorganismen handelt, werden höhere Forderungen als in der Praxis gestellt. Die Forderung ist hier, mit absoluten Reinkulturen zu arbeiten, teils in kleineren Mengen, teils in so grossen Massen, dass sie zu einem gegebenen Zeitpunkte den Versuchsraum verlassen können, um in den Betrieb übergeführt zu werden. Solche Bedingungen, welche in der Praxis vermisst werden, sucht man dann im Laboratorium, welches speziell für diese Untersuchungen eingerichtet ist, zu realisieren, und wir werden jetzt in kurzem diese Ansprüche und die Art und Weise, wie sie erfüllt werden, angeben, indem wir aus rein historischen Gründen mit dem letzten Gliede beginnen: den Gefässen und Flüssigkeiten, welche die ursprünglich hergestellte kleine Reinkultur empfangen, und den Hülfsmitteln, welche bei der Züchtung in Verwendung kommen. Man verlangt von diesen Elementen, dass sie vor dem Empfange der Aussaat steril, d. h. von allen lebenden, entwickelungsfähigen Keimen befreit sind, ferner, dass die übrigen Geräte und die Luft

im Arbeitsraume so wenig lebende Keime als möglich enthalten. Dasselbe gilt begreiflicher Weise auch für die Bekleidung und die Hände des Arbeitenden.

Eine solche Sterilisation und Desinfektion, welche ja auch teilweise in der Praxis angestrebt wird, ist selbstverständlich von ganz anderer Art als die chemische Reinigung. Sie kann und muss in verschiedener Weise ausgeführt werden. Solche Gegenstände, deren Beschaffenheit eine Erwärmung erlaubt, welche bedeutend über den Kochpunkt hinausgeht, z. B. eine Erwärmung bis zu ca. 150° C. in 2 Stunden, können nachweislich dadurch keimfrei gemacht werden; die metallenen Geräte, wie Zangen, Pincetten u. s. w. und ebenso gläserne Apparate können schnell sterilisiert werden durch Glühen oder durch starkes Erhitzen in einer Flamme und danach folgende Abkühlung in einem keimfreien Raume. Apparate von brennbaren Stoffen können durch wiederholtes schnelles Durchziehen durch eine Flamme an der Oberfläche keimfrei gemacht werden, wenn sie vorher gründlich mechanisch gereinigt wurden. Für die Nährflüssigkeiten wird ein Kochen der gewöhnlichen Art und von einer Dauer, welche sich nach der Beschaffenheit der Flüssigkeit richtet — z. B. nach den Stoffen, welche zur Herstellung benutzt wurden — Sterilität hervorbringen können. Es gilt, während der Abkühlung solche Dispositionen zu treffen, dass nur keimfreie Luft mit der Flüssigkeit in Berührung kommt; hierüber später. Es ist bekannt, dass, während die vegetativen Entwickelungsstufen der Bakterien einer Erwärmung von 100° C. nicht widerstehen können, dagegen die Sporen mehrerer Arten bedeutend resistenter sind. Es erfordert oft ein Kochen von mehreren Stunden, ehe sie getötet werden. Ganz merkwürdig zeigte sich, dass, wenn man die Sporen des Heubacillus einem kurzen Kochen unterwirft, sie dadurch zu einer kräftigeren Wirksamkeit als sonst stimuliert werden.

Gewisse Flüssigkeiten vertragen keine Erwärmung bis zum Kochpunkte, indem hierdurch solche Veränderungen in ihrer Zusammensetzung eintreten, dass sie schliesslich unverwendbar werden. Dies ist z. B. der Fall mit dem zum Bakterienstudium verwendeten Blutserum, welches im gelatinösen Zustande benutzt wird. Dieser Stoff, auf 100° C. erwärmt, wird dünnflüssig, ohne wieder

zu erstarren und man ist daher genötigt, einen anderen Weg einzuschlagen, um es sterilisiert im gelatinösen Zustande zu erhalten. Es wurde beobachtet, dass schon eine Erwärmung auf 58—62° C. hinlänglich war, um die vegetativen Bakterien, welche sich im Blutserum entwickeln, zu töten. Bei dieser Behandlung des Stoffes bleiben nur die Bakteriensporen lebendig zurück. Stellt man das gelatinierte Serum auf ein paar Tage in den Thermostaten hinein bei einer für die Entwickelung der Sporen günstigen Temperatur von ca. 30° C., dann wird der grösste Teil der Sporen keimen, und man kann danach die neuen vegetativen Fäden durch ein neues Erwärmen bei ca. 60° C. töten. Wiederholt man diesen Prozess einige Male, dann wird die gelatinöse Masse, sofern die Luftkeime keinen Zutritt erhalten, sich unbegrenzte Zeit steril erhalten können. Dieser Vorgang, welcher auch zum Sterilisieren der Milch benutzt wird, und der von TYNDALL erfunden wurde, ist von R. KOCH zum ersten Male genauer begründet.

Eine andere Weise, die störenden Keime zu töten, ist die Anwendung desinfizierender Stoffe, welche als Gift auf die Organismen einwirken. Nicht wenige dieser Stoffe fanden auch im praktischen Betriebe Verwendung. Die Grenze für die Anwendung solcher giftigen Stoffe muss in jedem einzelnen Falle bestimmt werden. Da es wahrscheinlich ist, dass Manipulationen mit solchen Giften auf den Arbeitenden schädlich wirken können, so ist die Aufgabe festzustellen, in wie starker Verdünnung sie benutzt werden können, um volle Dienste zu leisten. In Mitteilungen aus dem kaiserlichen Gesundheitsamte I, 1881 hat R. KOCH die Resultate einer bedeutenden Reihe solcher Untersuchungen gegeben, welche in hygienischer Hinsicht veranstaltet wurden. Die verschiedenen Desinfektionsmittel wurden auf ihre Fähigkeit die Bakteriensporen, Pilzsporen, Hefenzellen und Bakterien zu töten, geprüft. Aus praktischen Gründen suchte KOCH jedoch zugleich darüber Aufklärung, in welchem Grade das zu untersuchende Mittel genüge, um die Entwickelung der Mikroorganismen in geeigneten Nährflüssigkeiten zu hemmen. Ich gebe hier in aller Kürze die aus der genannten Untersuchung KOCHs

erhaltenen Resultate: die Karbolsäure zeigte sich nicht als ein so vorzügliches Desinfektionsmittel, wie man es im allgemeinen dafür hält. Eine 5prozentige Lösung vernichtete erst nach 48 Stunden die Entwickelungsfähigkeit der Milzbrandsporen, während die Milzbrandbacillen nach einer Einwirkung von 2 Minuten in einer 1prozentigen Lösung getötet wurden. Zur Hemmung des Wachstums der letzteren genügte eine Lösung von $^1/_{850}$; eine fünf- bis siebenmalige Befeuchtung von Milzbrandsporen mit einer 5prozentigen Lösung vermochte eine Verzögerung ihrer Entwickelung herbeizuführen. In öligen und alkoholischen Lösungen war die Karbolsäure den Milzbrandzellen und -Sporen gegenüber absolut wirkungslos. In Dampfform wirkte die Karbolsäure kräftiger, doch konnte selbst eine zweistündige Einwirkung von Karbolsäuredämpfen von 75° C. die Entwickelungsfähigkeit der genannten Sporen nicht unterdrücken. Die schweflige Säure ist, selbst unter sehr günstigen Verhältnissen, nicht imstande alle Keime zu vernichten; das Gleiche gilt vom doppelschwefligsauren Kalk und Chlorzink. Dagegen sind Chlor, Brom und Sublimat sicher wirkende Desinfektionsmittel. Das Sublimat wirkt in einem Verhältnisse von 1 : 1000, in den allermeisten Fällen schon in 1 : 5000 tötend auf alle Keime. In den physiologischen Laboratorien findet daher dieser Stoff fast überall Verwendung, in der Praxis auf Grund seiner starken Giftigkeit weniger. Dagegen müssen wir das Chlor oder seine Verbindung mit Kalk als ein treffliches, leicht zu benutzendes und billiges Desinfektionsmittel empfehlen. In solchen physiologischen Laboratorien, wo es speziell gilt, sich gegen Invasion von fremden Keimen zu schützen, wird eine spirituöse Lösung von Salicylsäure gute Anwendung finden können (wird von HANSEN im Carlsberger Laboratorium immer zur Reinigung der Tische benutzt). Die gärungshemmenden Wirkungen dieses Stoffes in verdünntem Zustande sind allgemein bekannt.

Wir kehren wieder zu unserem Thema zurück und geben hier einige Mitteilungen über die Einrichtung der Gefässe, in welchen die Kulturen im Laboratorium vorgenommen werden, und über die Wahl der Nährsubstrate.

An die Gefässe, in welchen die Kulturen vorgenommen

werden, ist die Forderung zu stellen, dass sie eine jede Infektion von aussen ausschliessen. Diese Forderung ist im höchsten Grade von den PASTEURschen Kolben erreicht. Die Abbildung zeigt ein solches Kölbchen in wenig veränderter Form, wie sie jetzt in dem von HANSEN dirigierten Carlsberger physiologischen Laboratorium angewendet wird. Unter dem Kochen der Nährflüssigkeit finden die Dämpfe zuerst ihren Weg durch das weite gerade Rohr, welches mit einem Stückchen Kautschukschlauch endet; wenn dieses geschlossen wird, haben die Dämpfe nur einen Ausweg, durch den gebogenen Tubus. Nach Verlauf einiger Zeit nimmt man das Kölbchen vom Sandbade, und der gebogene Tubus wird mit einem Asbestpfropfen geschlossen. Hiermit ist die Sterilisierung fertig, und der Inhalt des Kolbens wird jetzt Jahre hindurch stehen können, ohne sich zu ändern. Während der Abkühlung — des Saugens — wird die Luft durch den Asbesttampon filtriert, und selbst in den Fällen, wo diese Filtration nicht vollständig war, zeigte sich, dass die weiter geführten Keime sich im untersten Teile der Krümmung ablagern oder höchstens die Erweiterung des dünnen Rohres erreichen, also ohne mit der Flüssigkeit selbst in Berührung zu kommen. Hiermit ist gegeben, was gethan werden soll, wenn man die Flüssigkeit im Kolben in starke Bewegung setzen oder sie durch das gerade Rohr abfüllen will, indem man sie doch gleichzeitig keimfrei bewahrt: Der untere Teil des gebogenen Rohres muss geglüht werden. Soll der Kolben geöffnet und mit einem anderen Kolben in Verbindung gesetzt werden, muss dies entweder in einem kleinen, keimfreien Raume, oder Öffnen und Zusammenfügung muss in einer Flamme geschehen; wenn man schnell arbeitet, dann wird im letzten Falle vor einer Infektion selten Gefahr sein.

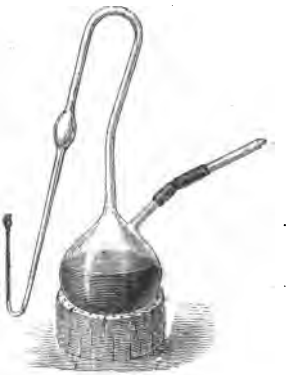

Fig. 3.
PASTEURsches Kölbchen.

In den letzten Jahren wurden verschiedene andere Kolben und Gefässe in Anwendung gebracht, namentlich der CHAMBERLANDsche Kolben (Fig. 4), dessen Hals mit einer eingeschliffenen Kappe gedeckt wird, welche oben in ein kurzes

offenes Rohr ausgezogen ist; dieses Rohr ist mit dicht gestopfter sterilisierter Baumwolle gefüllt. SALOMONSEN benutzt Kolben mit kurzem, konischem Halse, auf welchem ein Kautschukschlauch mit mehreren kleinen baumwollenen Tampons angebracht ist. Der PASTEUR'sche Kolben wird ganz unzweifelhaft in gewissen Richtungen unentbehrlich sein, z. B. bei physiologischen Untersuchungen, namentlich über Alkoholgärung.

Fig. 4.
CHAMBELANDscher Kolben.

Was die Nährsubstrate betrifft, ist es selbstverständlich immer die Aufgabe, solche zu finden, welche sich am besten für den betreffenden Organismus eignen. Besitzen sie gleichzeitig den Vorzug, dass sie an und für sich für die Entwickelung konkurrierender Formen weniger günstig sind, dann ist viel gewonnen. Es gilt natürlich immer als Regel, wo vergleichende Untersuchungen in anderen Richtungen angestellt werden, dass die Nährflüssigkeit immer die gleiche bleiben muss. Zur Untersuchung der Alkoholgährungspilze verwendet HANSEN am häufigsten die gehopfte Würze von den Tropfsäcken; in speziellen Fällen wird bei Untersuchungen dieser Art Hefenwasser mit einem Zusatze von Glycose oder eine Lösung von Saccharose in Wasser benutzt. Will man einen festen Nährboden verwenden, dann wird die Flüssigkeit mit 5—10 prozent. Gelatine vermischt. Zu Bakterienuntersuchungen verwendet man ähnliche Flüssigkeiten oder häufiger Fleischextrakt mit einem Zusatze von Pepton; diese Mischung wird z. B. mit kohlensaurem Natron neutralisiert. Als gelatinierende Mittel wendet man entweder Gelatine oder Agar-Agar an. Zum Studium der Schimmelpilze sind feste Nährsubstrate, speziell für die meisten Fälle sterilisiertes Schwarzbrot, das beste. Will man Flüssigkeiten benutzen, dann eignet sich hierzu die Bierwürze, Fruchtdekokte oder Zuckermischungen mit einem Zusatze von Weinsäure oder weinsauren Salzen. PASTEUR benutzte bei seinen berühmten Untersuchungen über die Gärungsorganismen (Ét. sur le vin 1866 und 1873, Ét. sur le vinaigre 1868, Ét. sur la bière 1876) ausschliesslich Flüssigkeiten als Substrate. Später wurden

die festen Substrate sehr ausgedehnt benutzt, und hier hat namentlich KOCH viele praktische Erläuterungen gegeben.

Wir haben so kürzlich auseinandergesetzt, wie unsere Mikroorganismen kultiviert werden, geschützt gegen Infektion von der Flüssigkeit selbst, von den Gefässen und Geräten und zu einem gewissen Grade von der Luft und dem Arbeitenden. Wir stehen dann der ersten und wichtigsten Frage gegenüber: Wie erreicht man die erste absolute Reinkultur, welche in den Kolben hineingeführt wird? Wie oben angegeben, begann ich aus rein historischen Gründen damit, die Bedingungen für die Bewahrung der Reinkultur anzugeben, weil man diese kannte, lange bevor man erreicht hatte, die Reinkultur selbst mit Sicherheit darzustellen.

Es wird hier lehrreich sein zu sehen, wie man Schritt für Schritt vorwärts gegangen ist, und wir greifen darum wieder die Sache historisch an von dem Augenblicke, wo wirklich rationelle Bestrebungen zur Erreichung des Zieles vorliegen.

In seinen Studien über das Bier (1876) gab PASTEUR zwei ausführliche Kapitel über die Kultur von Mikroorganismen in reinem Zustande; im vierten Kapitel erwähnt er die Schimmelformen und die Organismen, welche eine Kahmhaut auf zuckerhaltigen Flüssigkeiten bilden, im fünften Kapitel die Hefenformen. Wir wählen einige Beispiele aus diesen Kapiteln. Um eine reine Vegetation der allgemeinen Pinselschimmel (Penicillium glaucum) zu erhalten, gibt PASTEUR den folgenden Vorgang an: Man lässt auf einem passenden Material den Pilz sich entwickeln, was mit keiner Schwierigkeit verbunden, da er in der Natur allgemein verbreitet ist, und wenn er seine fruchttragenden Hyphen vom Substrate gehoben und eine reichliche Menge von Conidien, die sich dem blossen Auge als ein feiner Staub zeigen, entwickelt hat, führt man ein Stückchen Platindraht, welches unmittelbar vorher durch eine Flamme gezogen wurde, über die Vegetation hin, so dass man den feinen Staub berührt, und danach schnell in einen der beschriebenen Kolben hinein. In diesem soll sich dann eine reine Vegetation des Pilzes entwickeln. Der Verfasser hebt jedoch selbst hervor, dass eine grosse Gefahr für die Reinheit darin liegt, dass die Luft zur ersten Kultur fremde Zellen geführt haben kann, welche man gleich-

zeitig auffängt und aussät. Er geht daher weiter und gibt einen anderen, zuverlässigeren Vorgang an. Man nimmt eine Anzahl von den allgemeinen Kolben mit einem einzelnen geraden Halse, welcher in eine feine Spitze ausgezogen ist (Vakuumskolben, Fig. 5); sie werden zur Hälfte mit einer passenden Nährflüssigkeit gefüllt und sterilisiert. Während des Kochens schmilzt man die obere Spitze des Halses zu, und beim Abkühlen dringt dann keine Luft in den Kolben. Eine Anzahl Kolben, in dieser Weise präpariert, werden an einem passenden Orte angebracht, die äusserste Spitze des Halses wird mit einer in der Flamme gereinigten Zange abgebrochen, und die Luft mit ihren lebendigen Keimen dringt nun mit Heftigkeit in den Kolben hinein, wonach die Spitze wieder zugeschmolzen wird. „Es kommt dann oft vor, dass sich Penicillium allein zeigt, so zahlreich sind die in der Luft schwebenden Conidien dieses Schimmelpilzes. Wir haben deutlich genug unter diesen Bedingungen ein Feld von Conidien ohne die geringste fremde Beimischung.“ Von einem solchen Kolben werden dann mit dem Platindrahte einige Conidien in einen anderen Kolben hineingeführt: „hierin haben wir das sicherste Mittel dazu, die Conidien von Penicillium vor Verunreinigungen befreit zu kultivieren.“ Genauer besehen stellt sich die Sache nicht wesentlich besser im letzten als im ersten Falle; denn wie die Luft im ersten Falle alles mögliche mit sich zu dem Schimmelrasen, welcher mit dem Platindrahte berührt wird, führen konnte, so gilt ganz dasselbe im zweiten Falle, nur nach einer kleineren Skala, da die Luft hier während der Entwickelung der eingedrungenen Keime ausgeschlossen wird; der Versuch No. 2 hat dagegen anscheinend den Vorzug, dass der Stoff, auf welchem die

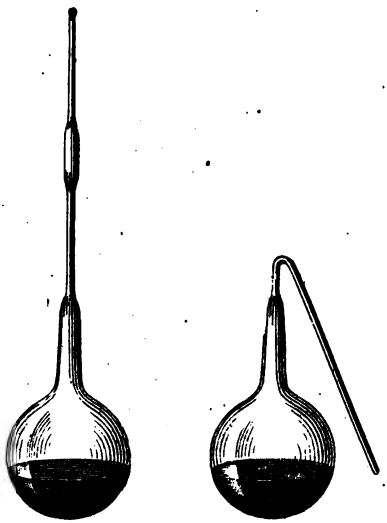

Fig. 5.
Vakuumskolben.

Aussaat geschieht, keimfrei ist, was von einer Seite Garantie geben kann. Eine solche Kultur kann nicht als Massenkultur benutzt werden, denn die Reinheit ist von Anfang an nicht gegeben.

Einen ähnlichen Vorgang erwähnt PASTEUR im 5. Kapitel zur Reindarstellung der Alkoholgärungspilze (Seite 193): Eine kleine Portion Hefe wird getrocknet und mit Gipspulver zerrieben. Dieser feine Staub wird von einem möglichst hohen Standpunkte in die Luft hinausgeworfen, und während die Partikeln herabfallen, werden wie im vorigen Falle eine Reihe von Kolben geöffnet, und es mögen dann durch Zufall Hefezellen, welche in der so gebildeten Staubwolke fein verteilt sind, in einige der Kolben vereinzelt eindringen." — Es ist dann, wie bei dem Schimmelpilz, der Zufall, welcher eine Reinkultur hervorbringt. Da es zur Zeit, wo PASTEURs Werk erschien, noch keine Merkmale zur Bestimmung der Arten gab, war der angegebene Weg immer sehr unsicher.

Die obengenannten zwei Beispiele bieten ein sehr grosses Interesse, indem wir in den Versuchen des berühmten französischen Naturforschers vielleicht den ersten Keim zu der sogenannten fraktionierten Kultur sehen. Der Gedanke, welcher in diesen Versuchen liegt, ist der, dass mittels irgend eines Stoffes — im obengenannten Falle der Luft — eine so feine Verteilung der mikroskopischen Keime hervorgebracht wird, dass man dadurch in den Stand gesetzt wird, denselben vereinzelt auszusäen. Diese Methode wurde im letzten Dezennium weiter entwickelt, und wir werden sie jetzt in ihren verschiedenen Stufen darstellen.

Bevor wir hierzu übergehen, werden wir kurz zwei andere Richtungen nennen, welche dasselbe Ziel anstreben und noch häufig Anwendung finden. Es ist einerseits die Möglichkeit gegeben, dass verschiedenartige Organismen gleichen feindlichen Eingriffen in ihre Lebenswirksamkeit verschiedenen Widerstand gegenüberstellen können, und andererseits können die verschiedenen Arten sich etwas verschieden verhalten, wenn ihnen dieselbe Nahrung geboten wird. Diese zwei Erfahrungen hat man benutzt, um sich Reinkulturen zu verschaffen. Eine allgemein verwendete Methode zur Darstellung einer Reinkultur des sehr verbreiteten Heubacillus (COHN) ist: dass ein

Heu-Infusum einige Tage stehen bleibt, wonach es kurze Zeit gekocht und dann wieder zur weiteren Entwickelung der Sporen hingestellt wird. Da die Sporen von Bacillus subtilis nämlich einem Wärmegrad von 100° C. widerstehen, während andere vegetative Bacterien unter diesen Umständen getötet werden, so können die überlebenden Sporen des Heubacillus sich entwickeln und eine Reinkultur geben — sofern sich im Infusum keine anderen ebenso widerstandsfähigen Sporen als diese befinden.

Die zweite Auffassung, welche ebenfalls häufig als Anleitung zur Darstellung von Reinkulturen gegeben wird, ist das verschiedene Verhältnis der Spezies zum Nährboden (KLEBS). Wenn in einer Mischung von Mikroorganismen eine Art sich befindet, welche von der Nahrung, die der Mischung geboten ist, besonders angesprochen wird, so wird, indem man stets eine Spur der succesive entwickelten Vegetationen in neue Kolben mit derselben Nahrung hineinführt, immer die betreffende Art auf Kosten der übrigen sich entwickeln, und so der Zeitpunkt eintreffen, wo diese Art das ganze Territorium erobert zu haben scheint. Wir müssen jedoch hier wieder die Möglichkeit bedenken, dass die übrigen Keime möglicherweise nur in der Entwickelung gehemmt oder stark zurückgedrängt sind; die begünstigte Art nützt die Nahrung mehr und mehr aus, und tritt früher oder später in einen Abschwächungszustand ein, vielleicht gehemmt und vergiftet von den Stoffen, welche sie während ihrer Ernährungswirksamkeit selbst hervorgebracht hat — und wo ist jetzt die Sicherheit dafür, dass nicht dann die anderen Arten günstigere Chancen für ihre Entwickelung finden? Eine Thatsache dieser Art kennt man mit Gewissheit in der praktischen Gärungsindustrie.

Nach dieser Abschweifung, welche ein Glied in der Geschichte der Irrtümer war, kehren wir zu den sogenannten fraktionierten Kulturen — Verdünnungsmethoden — zurück. Hier hat NÄGELI für die Bacterien interessante Beiträge gegeben. Um eine Aussaat von einem Individuum zu bewerkstelligen, ist es zuerst notwendig zu wissen, wie viele Individuen sich in einem bestimmten Volumen der Nährflüssigkeit befinden. Dies berechnete er und bestimmte danach, dass die Flüssig-

keit bis zu einem gewissen Grade verdünnt, in einem gegebenen kleinen Volumen einen Keim enthielt.

Eine Aussaat dieses Volumens war danach die Grundlage einer wirklichen Reinkultur.[1]) Man ist hier dem Ziele etwas näher gerückt, und insofern die angestellte Berechnung richtig ist, und das Experiment sorgfältig ausgeführt wird, kann auf diesem Wege das Gewünschte erreicht werden. Es ist einleuchtend, dass die Bedingungen immer einigen Zweifel hinterlassen mögen, denn eine genaue Zahlenangabe der Individuen einer Bacterienvegetation ist mit den bis jetzt bekannten Hilfsmitteln unmöglich. Selbst wenn dies möglich, stellte sich eine neue Frage auf: Wie unterscheidet man die Kolben, welche eine Zelle empfangen haben, von den Kolben, welche trotz der Berechnung mit mehreren Zellen infiziert wurden? Für die Bakterien wurde kein Mittel dazu gefunden; nur für die Hefenzellen hat HANSEN ein solches Mittel angegeben, nämlich die Hefenflecke.

Ein anderer Weg wurde von dem berühmten R. KOCH eingeschlagen. Als Verdünnungsflüssigkeit benutzte er zuerst sterilisiertes Wasser und danach eine Nährflüssigkeit, welcher so viel Gelatine zugesetzt ist, dass sie bei gewöhnlicher Temperatur erstarrt. Hierdurch wird erreicht, dass die Keime fest liegen und sich frei von einander entwickeln können. Der Vorgang ist: Von der unreinen Kultur wird eine Spur herausgenommen, welche in einer grossen Menge sterilisierten Wassers überführt wird. Hiervon wird wieder ein kleines Quantum in einen Kolben eingeführt, welcher z. B. eine Mischung von Bouillon und Gelatine, zu 30° C. erwärmt, enthält. Der Kolben wird geschüttelt, um die Keime zu verteilen, und der Inhalt wird dann auf eine grosse Glasscheibe, die von einer Glocke gedeckt ist, ausgegossen. Kurz danach erstarrt die Gelatine, und die Keime liegen jetzt in der festen Masse eingegossen. Sie entwickeln sich

1) Ein Beispiel: Ein Tropfen einer verfaulten Flüssigkeit, welcher 0,03 *ccm* maass, enthielt nach der Berechnung 500 000 Individuen; der Tropfen wurde mit 30 *ccm* sterilem Wasser versetzt und war so 1000 Male verdünnt; von der stark geschüttelten Flüssigkeit wurde ein Tropfen herausgenommen und mit 30 *ccm* Wasser versetzt; die ursprüngliche Flüssigkeit war so 1 000 000 Male verdünnt, und jeder zweite Tropfen enthielt einen Keim.

nach ein paar Tagen zu Kolonieen — Punkten oder Flecken, welche für das blosse Auge sichtbar sind. Es ist hier eine grosse Wahrscheinlichkeit, dass die Keime einzeln in der Gelatine eingelagert worden sind, und wenn man eine solche kleine Kolonie in einen sterilisierten Kolben einführt, dann hat man wenigstens in vielen Fällen eine Reinkultur. Die Reinheit der Flecken in der Gelatine wird für die Bakterien nach KOCH zum Teil durch ihr Aussehen, Farbe, Form u. s. w. bestimmt. Eine absolute Sicherheit erreicht man natürlich durch die KOCHsche Methode nicht.

Wenn nun die Aufgabe gegeben ist, Reinkulturen der Hefenpilze, und speziell der Saccharomyceten darzustellen, so ist keine der obengenannten Methoden eigentlich zu empfehlen.

Auf die KOCHsche Gelatineplatte überführt, bringen die verschiedenen Arten Kolonieen hervor, welche gar keine oder höchstens sehr schwache Differenzen zeigen. Direkte Versuche von HANSEN haben gezeigt, dass trotz aller Mühe sich in solchen Gelatinekulturen hin und wieder ein Fleck findet, welcher von verschiedenen Arten gebildet, zwei oder mehrere Keime neben einander abgelagert enthält. Wie können wir diese Schwierigkeit entfernen? HANSEN hat die Antwort gegeben: Dadurch, dass die Gelatineschicht, welche von der erstarrten Nährflüssigkeit gebildet wird, in einer solchen Weise angebracht wird, dass unter dem Mikroskope zu beobachten ist, wo die isolierten Keime liegen; dass man ferner die Lage dieser Keime sich genau merken, oder auch, unter dem Mikroskop schrittweise das Individuum sich zu einer Kolonie entwickeln sehen kann. Die Glasplatte, welche in dem KOCHschen Versuche eine bedeutende Grösse hat, ist hier ein rundes Deckglas von ca. 30 *mm* Durchmesser. Dieses wird auf einem Glasringe befestigt, welcher wiederum auf einem dickeren Glase angebracht wird, also eine der früher erwähnten feuchten Kammern bildet (cfr. Fig. 2, S. 8), welche dem Zweck angepasst ist und eine feste Gelatineschicht an der inneren oberen Seite trägt. Der Schwerpunkt in der jetzt zu beschreibenden Methode liegt darin, dass hier in keinem Punkte aufs Ungewisse gearbeitet wird. Die Keime sollen so stark verteilt werden, dass sich nur verhältnismässig wenige in der Gelatineschicht finden; entweder lässt man dann die Kammer unterm

Mikroskope stehen, um der Vermehrung der Keime direkt zu folgen, oder man merkt sich, durch Einteilung der Glasscheibe in kleine Quadrate oder in anderer Weise, wo die gut isolierten Keime liegen und stellt den Apparat in den Vegetationskasten, bis die Kolonieen fertig gebildet sind. Wenn dies geschehen soll die Kolonie mit einem Platindrahtstückchen, welches vorher geglüht wurde, in den PASTEURschen Kolben eingeführt werden. Die Kultur befindet sich bei dieser Übertragung einen Augenblick in der Luft und ist hier der Infektion ausgesetzt. Auf diesem einzigen schwachen Punkt wird aber das Spiel des Zufalls auf ein verschwindendes Minimum, auf Null, herabgebracht, zumal wenn die genannte Operation in einem kleinen abgegrenzten, keimfreien Raume vor sich geht, z. B. in einem kleinen Kasten mit gläsernen Wänden, welcher gross genug ist, um die Apparate und die Hände des Arbeitenden zu fassen. Der Kasten ist mit einer kleinen Thüre versehen, durch welche die Hände eingeführt werden können; die Wände sind inwendig feucht, die Hände des Experimentators von allen lebenden Keimen befreit. In dieser Weise geht die Überführung der Kolonie mit aller erdenklichen Sicherheit vor sich. Meistenteils werden doch die sämtlichen Arbeiten in einem gewöhnlichen, reinen Zimmer ausgeführt. Von dem ersten Kolben kann die Kultur ohne Spuren von Infektion in immer mehr und grössere Kolben überführt werden, und nach allgemeiner Kritik behaupten wir dann, dass die HANSENsche Methode dem Ziele so nahe gerückt ist als möglich. Das zweite, eben so wichtige Glied in der Operation, die Kontrolle über unsere Reinkultur, werden wir später behandeln.

In der Hefen- und Spiritusfabrikation wird es von Bedeutung sein, die Vermehrungsfähigkeit der Hefenzellen während der Entwickelung der Hefe zu bestimmen. Dies muss selbstverständlich durch eine direkte Zählung der Zellen geschehen, die in einem bestimmten Volumen der gährenden Flüssigkeit in verschiedenen Stadien der Gärung sich befinden. Solche Versuche wurden namentlich von DELBRÜCK, DURST, HANSEN, HAYDUCK und PEDERSEN vorgenommen, eine Zählung der Bacterien wurde von FITZ ausgeführt.

Die Zählung wird durch den von HAYEM und NACHET konstruierten Apparat bewerkstelligt (Fig. 6), welchen man zuerst zur Zählung der Blutkörper anwandte (darum Hämatimeter genannt). Es war der verstorbene Prof. PANUM in Kopenhagen, welcher diesen Apparat zum ersten Male zur Zählung der Mikroorganismen, um ihre Vermehrungsfähigkeit zu bestimmen, verwendete. Das Hämatimeter besteht, wie die Figur zeigt, aus einem Objektglase, worauf ein Deckglas von bekannter Dicke (z. B. 0,2 *mm*) festgekittet ist, und in dessen Mitte eine runde Öffnung ausgeschnitten ist. In diese Vertiefung bringt man einen kleinen Tropfen der Flüssigkeit, welche die Zellen enthält; ein plangeschliffenes Deckglas wird über die Öffnung gelegt und ruht so auf dem festgekitteten durchlöcherten Deckglase. Der Flüssigkeitstropfen darf nicht so gross sein, dass er durch diesen Druck über den von dem Ausschnitt begrenzten Raum hinausfliesst, er muss aber hoch genug sein, um von dem aufgelegten Deckglase berührt zu werden. Man kennt somit die Dicke der Flüssigkeitsschicht. Um auch die zwei anderen Dimensionen zu bestimmen, und so mit einem gegebenen Volumen der Flüssigkeit zu operieren, bringt man im Okular des Mikroskops eins der allgemein bekannten Mikrometer, ein dünnes Glasstückchen worin z. B. 16 kleine Quadrate eingeritzt sind, an. Den wirklichen Wert eines solchen Quadrates bei Anwendung eines gegebenen Systems kennt man, und so ist, indem das Quadrat auf das Objekt herab projiziert wird, ein kleines Prisma von bekanntem Volumen abgegrenzt. Mehr praktisch in gewissen Fällen ist, wie ZEISS-Jena nach Anweisung von THOMA gethan hat, ein feines System von Quadraten bekannter Grösse im Boden der Vertiefung an dem Objektglase selbst anzubringen; hierdurch wird zugleich die mikroskopische Einstellung auf die Zellen, welche sich am Boden der Kammer befinden, sicherer sein.

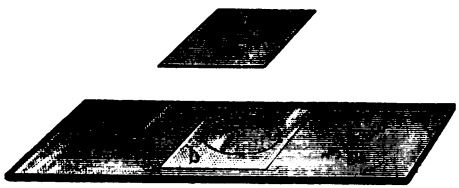

Fig. 6.
Hämatimeter.
a Objektträger, *b* festgekittetes Deckgläschen mit zirkelruner Öffnung, *c* Deckgläschen.

Wenn es nur eine Bestimmung der Vermehrungshastigkeit der Zellen gilt, also wiederholte Angaben der Zahl von Zellen in demselben Volumen, dann ist es ja überflüssig, die Grösse dieses Volumens zu bestimmen; die Aufgabe ist dann nur, immer mit demselben Volumen zu arbeiten.

Es wird stets verlangt, dass die genommene Probe eine Durchschnittsprobe sein soll; diese muss in den meisten Fällen verdünnt werden, und wird längere Zeit stark durchgerührt, um eine gleichmässige Verteilung der Zellen herbeizuführen; das spezifische Gewicht der Flüssigkeit muss so sein, dass sie erlaubt, dass die Zellen kurze Zeit darin schweben bleiben. Mit einem Haarröhrchen wird ein Tropfen aufgesaugt, welcher in den Zählapparat überführt und vom Deckgläschen bedeckt wird. Man lässt nun den Apparat einige Zeit ruhig stehen, damit die Zellen sich im abgegrenzten Raume zu Boden setzen können, und darf das spezifische Gewicht der Flüssigkeit darum auch nicht grösser sein, als dass dies in passender Zeit geschehen kann. Die beiden Forderungen werden gewöhnlich von der in den Fabriken benutzten Würze erfüllt.

Zeigt sich nun, dass in dem bestimmten Volumen sich zu viele Zellen befinden, um mit Sicherheit gezählt werden zu können, so muss die Flüssigkeit verdünnt werden. Es kann dies auch in anderer Beziehung zweckmässig sein zu verdünnen, teils um die Schaumbildung, die sonst bei dem starken Umrühren häufig eintritt, zu verhindern, teils um die einzelnen Zellen zu isolieren, welche in der Würze häufig in Kolonieen oder grösseren Massen zusammengeballt sind und nicht immer bei der Umrührung gesondert werden, und endlich um zu bewirken, dass beim Anfange des Versuches ein Aufhören der Gärung und der Vermehrung der Hefenzellen stattfindet.

HANSEN fand, dass verdünnte Schwefelsäure (1:10) im ganzen diesen Forderungen entspricht; auch Chlorwasserstoffsäure, Ammoniak und Natronlauge lassen sich anwenden, aber weniger gut. Verlangt man eine sehr starke Verdünnung, dann kann man, nachdem 1—2 Volumen Schwefelsäure zugesetzt wurden, destilliertes Wasser zufügen.

Wenn man die verschiedenen Flüssigkeitsvolumina mit Genauigkeit abmisst und namentlich durch starkes und andauerndes

Umrühren für eine wirkliche Verteilung der Zellen sorgt, dann kann mit grosser Genauigkeit gearbeitet werden. Es müssen immer 2 gleiche Verdünnungen hergestellt und Proben von beiden zur Zählung herausgenommen werden. Ebenso muss man natürlicherweise auch bei Versuchen bestimmen, wie viele kleine Quadrate zur Zählung ihres Zellinhalts benutzt werden müssen, um eine richtige Mittelzahl zu erreichen. Man setzt dann eine solche Zählung und Bestimmung der Durchschnittszahlen fort, bis eine neu gefundene Grösse ohne Einfluss auf den Durchschnittswert sich ergibt. Die Anzahl der Zählungen und überhaupt die Genauigkeit beruht auf der Übung und der Sorgfalt, die man anwendet. HANSEN fand, dass es gewöhnlich genügte, die Zellen in 48 oder 64 kleinen Quadraten zu zählen.

---

2. Kapitel.

Luftuntersuchungen.

Wie das Wasser bisher im Gärungsbetriebe als einer der rätselhaften Faktoren dastand, welcher häufig für Unregelmässigkeiten, die in keiner andern Weise erklärt werden konnten, die Schuld tragen musste, so wurden zu allen Zeiten viele Eigentümlichkeiten der an einem bestimmten Orte erreichten Resultate als von der Luft herrührend betrachtet. Es lag hierin eine dunkle Ahnung, dass diese unsichtbare Luft doch Stoffe enthalte, welche in unsere Wirksamkeit nachteilig einreifen — welcher Art diese Stoffe seien und wie man überhaupt eine nähere Kenntnis derselben erhalten könne, darüber befand man sich bis zur neuesten Zeit gänzlich im Unklaren. Die chemischen Untersuchungen der Luft sind schon über 100 Jahre alt. Im Jahre 1774 fand PRIESTLEY und SCHEELE, dass die Atmosphäre aus Sauerstoff und Stickstoff bestand. 1804 wiesen GAY LUSSAC und HUMBOLDT nach, dass die Proportion zwischen

diesen zwei Stoffen überall genau die gleiche ist; später wurde gefunden, dass die Luft ferner Wasserdämpfe, Kohlensäure, Ammoniak und Salpetersäure, und an einzelnen Orten wechselnde Mengen von Chlor, Schwefelwasserstoff, Kohlenwasserstoff u. s. w. enthalte.

Nach und nach kam noch ein neuer Faktor hinzu: es wurde unzweifelhaft dargethan, dass die Luft nicht überall der menschlichen Natur gleich zuträglich ist; es dürfte sich möglicherweise etwas finden, was unsern Organismus angreift; dieses Unbekannte wurde die „Miasmen" (Mischungen) genannt; das Wort wurde rein chemisch aufgefasst. Da diese Mischungsverhältnisse jedoch nicht genauer nachgewiesen wurden, war die Wissenschaft damit keinen Schritt weiter gerückt.

Für ganz einzelne Forscher tauchte eine neue Seite des Inhaltes der Luft auf: die Mikroorganismen, und binnen kurzer Zeit wurde klargelegt, dass solche sich in der Luft überall finden; damit war auch wahrscheinlich gemacht, dass diese eine bedeutende Rolle unter den Konstituenten der Luft spielten. Dass diese Mikroorganismen auch für die Gärungsindustrie von wesentlicher Bedeutung sind, wurde namentlich von PASTEUR dargethan, indem er nachwies, dass die Luft sowohl Bacterien als Alkoholhefenpilze enthalte.

Hiermit sind die Aufgaben gegeben: Welcher Art sind diese in der Luft schwebenden Keime? In welchem Grade, in welchem Umfange kommen sie im Raume vor? Ist ihre Anzahl und Art zu den einzelnen Jahreszeiten verschieden? Und endlich: Sind sie wirklich im stande, in nachdrücklicher Weise in den Betrieb eingreifen zu können?

Es wird von Interesse sein, einen Blick auf die verschiedenen Methoden zu werfen, durch welche man die Luft mit Hinsicht auf ihre Keime zu analysieren gesucht hat.

Die meisten Luftanalysen hatten zum Ziel etwas Licht in die rätselhafte Finsternis zu schaffen, welche die meisten kontagiösen Krankheiten einhüllt, die ja bekanntlich fast alle auf die Wirksamkeit mikroskopischer Organismen zurückgeführt werden. Für die Fermentorganismen liegen Untersuchungen von PASTEUR und später von HANSEN vor. Der französische Natur-

sorscher gab an, dass diese Keime zwar immer in der Luft herumschweben; in der Regel findet man sie jedoch in weit grösserer Menge in dem Staube der zu benutzenden Geräte abgelagert. Die eigentlichen Alkoholgärungspilze sind in verhältnismässig geringer Zahl in der Luft vorhanden, während die Keime der Schimmelpilze häufiger sind; er wies ferner, sowie später TYNDALL, nach, dass der Inhalt der Luft an Keimen wechselt, was sowohl die Menge wie die Arten betrifft. Diese Resultate wurden in der Weise eingeholt, dass PASTEUR in offenen flachen Schalen an verschiedenen Orten Bierwürze, Weinmost oder zuckerhaltiges Hefenwasser hinstellte; nach einiger Zeit wurde dann ihr Inhalt auf mikroskopische Keime untersucht. Ferner benutzte PASTEUR hierzu die früher (S. 16) beschriebenen Vacuumskolben.

Der Naturforscher, welcher in den letzten Jahren ohne Zweifel die grösste Zahl von Luftanalysen vorgenommen hat, ist MIQUEL, Vorstand des auf Montsouris bei Paris speziell zu diesem Zwecke eingerichteten Laboratoriums.

Er führte seine ersten Untersuchungen mit einem sogenannten Aëroskope (Fig. 7) aus, welches in folgender Weise hergestellt ist: Von dem Scheitel einer Glocke A geht ein Rohr C aus, wodurch Luft gesaugt wird, sodass sie die Glocke passiert. In dem offenen Ende der Glocke ist ein hohler Kegel eingeschraubt, welcher seine Mündung B nach unten wendet; in der Spitze dieses Kegels D befindet sich eine feine Öffnung, durch welche die eingesaugte Luft hinausfährt, und gerade über diese Öffnung ist eine dünne Glasscheibe mit einer Mischung von Glyzerin und Glycose bedeckt, angebracht. Was die Luft mit sich führt, wird wenigstens teilweise auf der dickflüssigen Mischung abgesetzt. Die hier aufgefangenen Mikroorganismen werden auf der Glasscheibe möglichst gleichmässig verteilt und unter dem Mikroskope

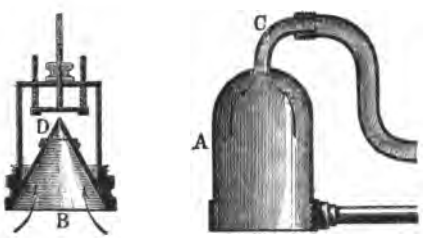

Fig. 7.
Aëroskop.

gezählt. Diese Methode ist in sofern mangelhaft, als man keinen Aufsschluss über den wichtigsten Punkt, welche und wie viele der eingefangenen Keime wirklich entwickelungsfähig sind, erhält. Um dies zu erfahren, benutzte MIQUEL andere Methoden. Er fängt die Luftkeime in sterilisiertem Wasser auf. Mit einem gewissen kleinen Volumen der stark geschüttelten verdünnten Flüssigkeit werden nun eine grosse Reihe von kleinen Kolben mit Nährflüssigkeit (z. B. Fleischinfusum zur neutralen oder schwach alkalischen Reaktion gebracht) infiziert. Es gilt hier, durch Vorversuche die Verdünnung der von der Luft infizierten Flüssigkeit so weit zu führen, dass nach darauf folgender Infektion der kleinen Kolben eine grössere Zahl (z. B. die Hälfte) derselben sich steril zeigt; man hat dann eine gewisse Wahrscheinlichkeit dafür, dass in jedem der übrigen Kolben, in denen Vegetationen sich entwickelten, nur ein Keim ausgesät worden ist. Durch eine einfache Rechnung kann dann natürlich bestimmt werden, wieviele in dem benutzten Medium entwickelungsfähige Keime sich in einem bestimmten, in den ursprünglichen Kolben eingesaugten Volumen Luft fanden.

Durch diese Untersuchungsmethoden fand MIQUEL, dass gleich grosse Volumina Luft an demselben Orte zu verschiedenen Zeiten eine verschiedene Zahl von Bacterien enthalten. Ein andauernder Regen reinigt in hohem Grade die Luft von Bacterien und verringert sich ihre Zahl fortwährend, so lange die Erde feucht ist, wonach sie mit dem Austrocknen der Erde wiederum allmählich zunimmt. In den trockenen Jahreszeiten ist denn die Zahl der Bakterien in der Regel am grössten, während die Schimmelformen, welche in der Feuchtigkeit am besten gedeihen und deren Vermehrungsorgane frei in der Luft emporragen, gerade in diesen Feuchtigkeitsperioden in der Luft am häufigsten sind. Die reinste Luft findet man in der Winterzeit; die Luft in den Städten ist weniger rein als die ausserhalb der Städte; keimfreie oder beinahe keimfreie Luft findet sich am Meere und auf hohen Bergen. An gewissen Orten, z. B. in Hospitälern, zeigte sich die Luft sehr reich an Bacterien, so in einem Falle 50mal reicher, als die Luft im Garten bei Montsouris.

Um die Luftkeime in Flüssigkeiten einzuführen, wurde von MIFLET in COHNs Laboratorium eine Wasserluftpumpe benutzt

welche die Luft durch mehrere Kolben mit Nährflüssigkeit hindurchsaugte; diese Kolben wurden dann in einen Brutkasten zur Entwickelung gestellt und danach mikroskopisch untersucht. Das Prinzip für die Wasserluftpumpe ist z. B., dass die Kolben luftdicht mit einem sehr grossen Behälter in Verbindung gesetzt werden, welcher, mit Wasser gefüllt, unten einen Abflusshahn besitzt. Je nachdem Wasser hinausfliesst, wird also Luft hineinströmen, und diese muss folglich zuerst die Nährflüssigkeit passieren. Durch diese Untersuchungen wurde im allgemeinen konstatiert, dass die Luft zahlreiche entwickelungsfähige Bacterien besitzt. — Der wesentlichste Mangel dieser Apparate, welche Luft durch eine Flüssigkeit führen, ist, dass in dieser Weise nur ein Teil der Luftkeime eingefangen wird. Wenn die Luft durch die Flüssigkeit hinaufsteigt, wird ein Teil der Keime mitgerissen und weiter geführt. Diese von MIQUEL gemachte Beobachtung hat praktische Bedeutung, indem sie lehrt, dass eine Filtration der Luft durch Flüssigkeitsschichten, z. B. Schwefelsäure, nicht unter allen Verhältnissen hinlänglich ist. Dieses beruht auf der Schnelligkeit des Luftstromes als auf der Dicke und Beschaffenheit der Flüssigkeitsschicht.

Eine ganz andere Methode zur Untersuchung der Luftorganismen ist die in KOCHs Laboratorium eingeführte und von HESSE genauer entwickelte. Ein Glasrohr von circa 1 *m* Länge und 4—5 *cm* Weite wird am einen Ende mit einer durchlöcherten Kautschukmembran überzogen, über welche wieder eine neue nicht durchbohrte gebunden wird; es wird nun ein wenig flüssige Gelatinemischung in das Rohr gegossen, wonach das andere Ende des Rohres mit einem Kautschukpfropfen geschlossen wird, der in einer Durchbohrung ein mit einem Wattepfropfen verschlossenes Glasrohr trägt. Der ganze Apparat wird so stark erhitzt, dass er steril ist, wonach das Rohr horizontal angebracht wird, so dass die Gelatine zu einer Schichte in dem niederen Teile des Rohres erstarrt. Wenn die Luft untersucht werden soll, entfernt man die äussere Kautschukkappe; die Luft wird langsam durch das Rohr gesaugt, indem das andere Ende mit einem Aspirator verbunden wird. Die Keime der Luft senken sich dann auf die Gelatine herab, und nach beendigter Aspiration wird das Rohr wieder geschlossen und in den Thermostaten gebracht, wo

die Keime dann sichtbare und also zählbare Kolonieen hervorbringen. Es zeigt sich bei hinlänglich langsamem Luftstrome, dass die Bacterien sich im vorderen Teile der Röhre entwickeln, während die Pilzsporen viel weiter innen in der Röhre zur Entwickelung gelangen. — Trotzdem, dass diese Methode auch ihre Vorzüge hat, steht sie doch in gewissen Richtungen vor der früher genannten zurück: sie wird in der Regel in noch höherem Grade zu kleineren Ziffern führen, denn es zeigte sich, dass die feste Gelatinenahrung oft nicht so günstig für die Entwickelung der vielen in der Luft schwebenden, oft stark eingetrockneten Keime als flüssige Nahrung ist; viele der Keime werden dann nicht Kolonien bilden können und werden folglich auch nicht mitgezählt.

HANSENs Untersuchungen der Luft fallen in den Zeitraum 1878 bis 1882. Das wesentlichste Ziel dieser Untersuchungen war, Aufklärungen für die Gärungsindustrie zu bringen. Wie bekannt, basieren seine schönen Untersuchungen über Saccharomyces apiculatus (1880) zum Teil auf Arbeiten dieser Art. Da die Frage den Organismen, welche im Brauereibetriebe vorkommen, galt, so war auch die Wahl einer Nährflüssigkeit getroffen: eine vergärbare, zuckerhaltige Flüssigkeit von derselben Art, wie sie in der grossen Industrie benutzt wird, und da die Versuche auf der beim Laboratorium liegenden Brauerei „Alt Carlsberg“ angestellt wurden, so war nichts natürlicher, als | die in dieser Brauerei dargestellte Würze für untergährige Biere zu benutzen. Die angewendeten Apparate waren entweder allgemeine Kochfläschen mit mehreren Schichten flambierten Filtrierpapieres überbunden, deren Inhalt eine bestimmte Zeit gekocht wurde, oder Kolben derselben Art wie die PASTEURschen Vacuumskolben (S. 16), deren Hals zu einer feinen Spitze ausgezogen war, und die während des Kochens mit Lack geschlossen wurden. Ein wenig unterhalb der Spitze wurde mit dem Glasmesser eine Furche in das Rohr geschnitten, damit die Spitze leicht abgebrochen werden konnte, wenn der Luft Zutritt gegeben werden sollte.

Wenn diese Kolben sich am Orte, wo die Luft untersucht wurde, vollgesogen hatten, wurden sie wieder mit Lack verschlossen und stark geschüttelt, um den Inhalt der eingedrungenen Luft mit der Flüssigkeit zu vermischen. Sie wurden

dann auf kürzere oder längere Zeit — bis zu 6 Wochen — hingestellt und nun mikroskopisch untersucht.

Bei dieser Untersuchung fand HANSEN oft, dass die Würze klar und anscheinend unverändert erhalten war, obgleich doch eine Entwickelung stattgefunden hatte. Man kann sich daher hier nicht auf die Untersuchung mit dem blossen Auge verlassen. Von solchen Formen, die, wenn sie in schwacher Entwickelung zugegen sind, makroskopisch nicht bemerkt werden können, nennt er: Aspergillus, Mucor, Penicillium, Cladosporium, Mycoderma aceti und Pasteurianum und endlich Saccharomyces Mycoderma. Auch wenn diese Mikroorganismen kräftige Vegetationen gebildet haben, wird die genannte Nährflüssigkeit sich klar erhalten.

Ferner zeigte sich, dass HANSEN bei Anwendung dieser Kolben oft Reinkulturen erhielt, indem nur eine Spezies mit der Luft ins Kölbchen eingedrungen war. Es war sehr selten, dass 3 oder 4 Arten in demselben Kolben eingedrungen waren. Dies rührt davon her, dass jeder Kolben nur ein geringes Volumen Luft empfängt, und sind die Vorteile hierbei einleuchtend: Man gelangt nur zur wirklichen Kenntniss dieser Keime, wenn sie sich entwickelt haben; in dem Falle, wo mehrere Keime in denselben Kolben eindringen, würde aller Wahrscheinlichkeit nach der stärkste Keim in seiner Entwickelung die andern hemmen, so dass sie bei einer späteren Untersuchung nicht bemerkt würden. Gleichzeitig verlangt dieser Vorteil das Öffnen einer grossen Zahl von Kolben, wodurch diese Untersuchung umfassend und kostspielig wird. Da die Kolben nur darüber Aufschluss geben, was im Augenblicke der Öffnung sich in der Luft befindet, so wurden die Kochflaschen als ein Supplement benutzt, indem sie längere Zeit, bis zu 48 Stunden, an demselben Orte stehen blieben.

Nach diesen einleitenden Bemerkungen geben wir eine kurze Darstellung der Resultate HANSENs.

Er bestätigt die von PASTEUR zuerst aufgestellten Sätze, dass die Luft an verschiedenen nahe liegenden Punkten zur selben Zeit eine verschiedene Zahl und verschiedene Arten von Organismen enthalten kann; auch für Orte, die in demselben Garten einander nahe lagen, fand HANSEN die Giltigkeit dieser Regel bestätigt. Als andere bezeichnende Charakterzüge für die Ver-

breitung der Organismen giebt HANSEN an, dass z. B. Organismen, welche in der ersten Hälfte vom Juli unter den Kirschbäumen im Garten allgemein vorkamen, in der letzten Hälfte desselben Monats an diesem Orte ganz fehlten; dass Organismen, welche zu einer Zeit unter den Kirschbäumen, nicht aber unter den Weinreben zu finden waren, später gerade nur unter diesen letzten sich fanden; als Beweis dafür, wie ungleich die Organismen verteilt sind, wird gezeigt, wie die in derselben Versuchsreihe an demselben Orte geöffneten Kolben oft einen höchst verschiedenartigen Inhalt hatten.

Ferner haben die Versuche mit den Vacuumskolben gelehrt, dass die Organismen der Luft oft in Gruppen oder Wolken auftreten, mit Zwischenräumen wechselnd, die entweder keimfrei sind oder doch nur ganz vereinzelte Keime enthalten. Da die Organismen nicht in der Luft erzeugt werden, sondern ihre Bildungsherde an der Erde haben, muss der Inhalt der Luft oft von der Beschaffenheit der Erdoberfläche bedingt sein, die wieder in gewissen Richtungen von der Witterung abhängt.

HANSENs zahlreiche Analysen haben ferner dargethan, dass die Saccharomyceten verhältnismässig selten im Staube der Luft vorkommen. Ihre Anzahl in der Luft nimmt von Juni bis August in der Weise zu, dass die Kolben Ende August und Anfang September häufig mit diesen Pilzen infiziert werden, wonach eine Abnahme stattfindet. Was zu anderen Zeiten des Jahres in der freien Luft von Mikroorganismen dieser Art in den Kolben auftritt, muss als ganz unwesentlich und zufällig betrachtet werden, und liegt daher ausserhalb der eigentlichen Hauptregel. Da die meisten Saccharomyces-Arten wahrscheinlicherweise, wie Saccharomyces apiculatus, ihren Überwinterungsort in der Erde und ihren Zeugungsort an den süssen, saftigen Früchten haben, so werden diese letzteren, nach Obigem, wie es scheint, als die wesentlichste Quelle der Infektion zu betrachten sein. Zu denselben Zeiten des Jahres treten auch die Bakterien in grösster Menge auf. Es liegt hierin eine bedeutende Gefahr für den praktischen Betrieb, indem die Würze, welche in dünner Schicht auf den offenen Kühlschiffen ausgebreitet ist, im genannten Zeitraume einer starken Infektion von den Luftkeimen ausgesetzt ist.

In etwas grösserer Zahl als die Saccharomyceten treten die

Bacterien in den Kolben auf, und in noch grösserer Zahl die Schimmelpilze. Unter diesen nennt HANSEN Cladosporium und Dematium als speziell hervortretend, danach Penicillium; seltener waren Botrytis, Mucor und Oidium.

Nachdem HANSEN so dargestellt hat, welche von den in der freien Luft befindlichen Mikroorganismen sich im Kolben mit sterilisierter Würze entwickeln können, geht er dazu über, seine Resultate von den Untersuchungen der verschiedenen Lokalitäten in der Brauerei mitzuteilen.

Wenn die Treber in der freien Luft liegen, senden sie, wie bekannt, saure Dämpfe aus, und da sie immer eine reiche Entwickelung von Bacterien enthalten, wenn sie eine kurze Zeit frei liegen, so drängt sich leicht die Frage auf: Wie ist die in der Nähe der Treberhaufen sich befindende Luft beschaffen? Es zeigte sich, dass von den in diesen Dämpfen geöffneten Kolben nur 30 pCt. infiziert wurden, davon 3,6 pCt. mit Saccharomyceten und 2,4 pCt. mit Bacterien, während Parallelversuche im Garten eine Infektion von ca. 44 pCt. ergaben, davon 8,5 pCt. Bakterien. Die Luft bei den Treberhaufen war hiernach ärmer an Bacterien als die Luft im Garten. Die reichlichste Infektion war die der Schimmelpilze, hier wie an allen anderen Orten. Nach einer genaueren Betrachtung kommt HANSEN zu dem Resultate, dass ohne allen Zweifel kaum ein einziger der in den Kolben auftretenden Organismen von den Trebern selbst herrührt. Jedenfalls steht der grosse Reichtum an Bacterien in den Trebern nicht in richtigem Verhältnisse zum obengenannten Befunde, welcher mit weit grösserer Wahrscheinlichkeit so gedeutet werden muss, dass die Luft ebensowenig hier als in anderen Fällen normal irgend welches Kontingent von Organismen von feuchten Oberflächen enthält.

Dies darf doch nicht dahin missverstanden werden, dass man ohne Gefahr die Treber an einem beliebigen Orte anhäufen und die Rester nach dem Aufnehmen der Witterung überlassen kann; es ist klar, dass darin eine grosse Gefahr liegt. Wenn diese Uberbleibsel eintrocknen und in der Luft als Staub herumwirbeln, werden gleichzeitig Massen von Bacterienkeimen mit emporgehoben, und ganz zweifellos liegt hierin eine Quelle zahlreicher Bacterieninfektionen. Darum müssen auch die Plätze,

wo Treber eine Zeit verweilt haben, mit Kalk- oder Chlorkalkwasser gewaschen werden.

In einem Korridor, der zu dem Raum führte, wo die Gerste gestürzt wurde, erhielten die Kolben immer die stärkste Infektion, die überhaupt gefunden wurde; namentlich war diese Luft sehr reich an Bakterien.

Auf den Malztennen war die Luft ebenfalls charakteristisch; sie enthielt immer eine sehr starke Schimmelvegetation. Im vorliegenden Falle rührte diese Vegetation von Eurotium Aspergillus glaucus her, welcher sonst selten war. An dem Malze selbst trat, wie immer, am häufigsten das Penicillium glaucum auf.

Das grösste Interesse knüpft sich jedoch an Untersuchungen der verschiedenen Gärungsräume, teils auf Alt-Carlsberg, teils in der Brauerei „N.“ In den erstgenannten Räumen war die Luft ärmer an Organismen als an jeder andern der in der ganzen Analyse untersuchten Räumlichkeiten; in den Gärkellern der Brauerei „N“ wurde dagegen eine grosse Zahl der Kolben infiziert (55, 75 bis 100 pCt.). Die Organismen, welche in der Luft dieser Keller auftraten, waren: Saccharomyces cerevisiae, S. Mycoderma, S. Pastorianus, S. ellipsoideus, Torula Pasteur und andere hefenähnliche Zellen, ferner Penicillium, Dematium, Cladosporium und Stäbchenbakterien. HANSEN konnte daher hier, durch einen günstigen Zufall, die zwei Kontraste im Zustande der Luft an dem wichtigsten Orte eines jeden gärungsindustriellen Etablissements nachweisen: auf der einen Seite eine beinahe keimfreie Luft, auf der anderen Seite eine von Keimen schwangere Luft. Dass das Produkt an dem letztgenannten Orte in diesem Zeitraume auch das Gepräge dieses Zustandes an sich getragen haben muss, steht ausser allem Zweifel, und wir befinden uns hier einer der allerwichtigsten Thatsachen gegenüber, wenn die Sache mit den Augen des Praktikers gesehen wird. Die Luft im Gärungsraume selbst kann eine Welt von den Keimen enthalten, welche in der Gärungsindustrie die grössten Kalamitäten nach sich ziehen; es ist aber auch möglich, sie von diesen unsichtbaren Keimen frei zu halten, und es unterliegt keinem Zweifel, dass teils die Reinigung der in den Gärungsraum einströmenden Luft durch ein Salzwasserbad, teils die in den Kellern der Brauerei Alt-Carlsberg aufs strengste überwachte Ordnung und Reinlichkeit in direktem

Verhältnisse zu diesem letztgenannten Resultate steht. HANSENs Untersuchungen enthalten daher hier wieder eine Mahnung, welche nicht häufig genug wiederholt werden kann. Wir kehren zu diesem Punkte zurück, wenn wir desselben Verfassers Untersuchungen über die Krankheiten des Bieres abhandeln werden.

---

3. Kapitel.

Die Bacterien.

Je mehr unsere Kenntnis dieser niederen Organismen sich erweitert, desto schwieriger wird es, eine allgemeine Definition derselben zu geben. Man kennt sie in allen Formen, von den feinsten Pünktchen oder Kügelchen bis zu grünen algenähnlichen Fäden, und sie treten so ziemlich an allen möglichen Orten auf, unter den verschiedenartigsten Verhältnissen, als Ursache der Verwesung oder Fäulnis (Saprophyten), von Krankheiten (pathogene Formen) und von Gärungen (zymogene Formen).

Die erste Kenntnis dieser Former erlangte man in der Weise, dass man geringe Mengen der verschiedensten Stoffe unter das Mikroskop brachte und bei starker Vergrösserung beobachtete. Im faulenden Fleische fand man da sehr kleine kugelige Körper, welche sich deutlich durch Querteilung vermehrten (Mikrococcen, „Bacterium termo“); in der sauren Milch traten kurze, stäbchenförmige Körper auf (Bacterien), in verwesenden Pflanzenstoffen grössere, kugelförmige Körper (Makrococcen) und lange, feine Fäden (Bacillen und Leptothrix); im Zahnschleime fanden sich hingegen sehr feine gebuchtete, gleichsam geknickte Fäden (Spirillen, Spirochäten) u. s. w. Es lag daher vorläufig nahe, diese Formen festzuhalten und als ebenso viele selbstständige Arten zu beschreiben, und namentlich COHN hat sich in dieser Hinsicht Verdienste erworben, indem er das erste Bacteriensystem aufstellte.

Wir betrachten zunächst die Formen und das Individuum etwas näher. Wie gesagt treten die Bacterien in ihrer einfachsten

Form als Kugeln von verschiedener Grösse auf bis zu solchen herab, welche bei sehr starker Vergrösserung gerade noch gesehen werden können, und nur bei ihrer Vermehrung durch Zweiteilung sich als Lebewesen kund geben. Man unterscheidet danach Makro- und Mikrococcen. Von dem Coccus findet ein allmählicher Über-

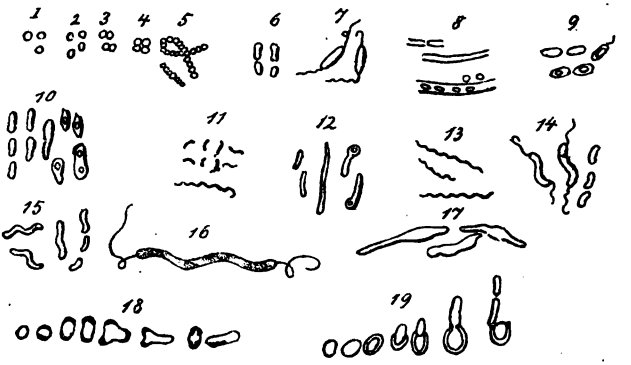

Fig. 8.

Wuchsformen von Bacterien, nach KOCH, PRAZMOWSKY und HUEPPE.
Coccenformen (kugelig 1, 3, 4, 5, ellipsoid 2);
Stäbchenformen (gerade 6, 7, 8, 9, spindelförmige 10);
Schraubenformen (Kommabacillus 11—16);
Involutionsformen (17).
Keimende Sporen (18, 19).

gang zum kurzen Stäbchen (Bacterium), von diesem zum etwas längeren Stäbchen (Bacillus) statt; wenn dieses sich in der Mitte erweitert und gegen die Enden zugespitzt wird, tritt die Clostridiumform auf; wird der Stab so stark verlängert, dass er mehr einem langen, feinen geraden Faden gleicht, wird er Leptothrix genannt; ist er (kurz oder lang) mehr oder weniger gebuchtet, geknickt oder gewunden, haben wir Vibrio, Spirillum, Spirulina oder Spirochäte; eine ganz besondere Form, welche wie verästelte Fäden aussieht, ist die Cladothrixform. Hierzu können noch hinzugefügt werden die merkwürdigen unregelmässigen, geschwollenen oder gebuchteten Formen, welche verschiedene Bacterien annehmen können, ohne dass die Ursache davon genauer bekannt wäre (Involutionsformen). Man findet diese Formen leicht, wenn man eine Kahmhaut des Essigsäurebacteriums untersucht.

Wir wählen nun eine dieser Formen und unterwerfen sie einer genaueren Betrachtung bei ca. 1000facher Vergrösserung. Wie eine jegliche andere Zelle enthält sie ein Protoplasma, eine gleichartige, schwach lichtbrechende Masse, worin hie und da deutliche kleine Körner auftreten können, namentlich wenn die Zelle nicht in der kräftigsten Entwickelung sich befindet. Bisweilen findet sich mitten in der Zelle eine ganz helle Partie, welche nach Analogie der höheren Pflanzen als ein Saftraum, eine Vakuole, aufzufassen ist. Bei einigen ganz speziellen Bacterien wurden bestimmte feste Stoffe im Plasma nachgewiesen, z. B. Schwefelkörner in den Bacterien, welche in schwefelhaltigem Wasser leben; bei einigen Arten kann das Plasma zu gewissen Zeiten von Jod blau gefärbt werden, was auf die Anwesenheit stärkeähnlicher Stoffe schliessen lässt.

Um diesen Plasmakörper herum treffen wir eine Zellwand oder Membran. Eine genaue Untersuchung durch Färbungen wird oft zeigen können, dass diese Membran in ihren äussersten Schichten gallertartig aufgequollen ist, was namentlich deutlich wird, wenn ganze Flocken von Bacterien angehäuft liegen. In chemischer Beziehung muss vorläufig angenommen werden, dass diese Zellwand für verschiedene Formen verschiedener Art ist. Bei einigen erinnert sie an die Stärke-Granulose der höheren Pflanzen, bei andern scheint sie eher den Eiweissstoffen in ihrer Zusammensetzung zu ähneln.

Viele Bacterien enthalten blaue, rote, gelbe oder grüne Farbstoffe, welche sehr intensive für das blosse Auge empfindliche Farben hervorbringen können. Unter dem Mikroskop zeigt sich dann das einzelne Bacterium sehr schwach gefärbt. Es liegt noch nichts Sicheres darüber vor, wo der Farbstoff seinen Sitz hat.

Eine merkliche Eigenschaft vieler Bacterien ist ihre — wenigstens scheinbare — freie Bewegung. Diese geht entweder schnell oder langsam von statten, indem sich die Bacterien um ihre Längsachse schwingen oder drehen, weite oder enge Buchtungen vornehmen. Bei einigen dieser beweglichen Formen beobachtet man bei starker Vergrösserung sehr feine Cilien oder Geisseln; inwiefern diese als Organe für die Bewegung aufgefasst werden müssen ist noch nicht entschieden und eben so

wenig, ob sie ihren Ursprung von der Membran oder von dem Zellinhalte haben.

Die Vermehrung der Bacterien geht in verschiedener Weise vor sich. In der Hauptsache kann man eine Vermehrung durch Teilung und durch Sporenbildung im Innern der Zelle unterscheiden. Die erste Art der Vermehrung ist bei den grösseren Formen in ihren Einzelheiten beobachtet worden: Es bilden sich feine Querscheidewände, welche nach und nach in der Dicke zunehmen und gallertartig werden; hierauf teilt sich der Faden in kleinere Stücken nach den Scheidewänden. Noch lange bevor man Spuren dieser Scheidewände beobachten kann, lässt sich durch Färbung des Fadens erkennen, dass er aus einer Reihe von Abschnitten besteht, deren jeder einem der später gebildeten Glieder entspricht.

Es wurde durch die Untersuchung der Vermehrung der Bakterien in obengenannter Weise (in der neuesten Zeit namentlich von ZOPF) dargethan, dass dieselbe Bacterienart in sehr verschiedenen Gestalten auftreten kann, z. B. als Spirill, Leptothrix, Bacillus, Bakterium und Coccus, und wir erhielten dadurch die wichtige Kenntnis zur Geschichte dieser Pflanzen, dass die angeführten Namen sehr oft nur Wuchsformen der Art angeben, aber nicht selbstständige Arten. Die folgende Frage lautet: Unter welchen Bedingungen tritt die Art in dieser oder jener bestimmten Form auf? Hierüber wissen wir bis jetzt ziemlich wenig.

Bei vielen Bacterien findet ferner eine Vermehrung durch Sporen statt in der folgenden Weise: Das Plasma in der Zelle wird dunkler, oft deutlich granuliert; danach tritt ein kleiner, dunkler Körper auf, welcher schnell an Umfang zunimmt und gleichzeitig stark lichtbrechend wirkt; inzwischen verschwindet der allergrösste Teil des Plasmas der Zelle, indem dies zur Bildung der Spore benutzt wird, und diese erscheint in einer klaren Flüssigkeit, welche nach und nach verschwindet, eingelagert; zuletzt schrumpft die Zellwand ein und ist nur noch ein hinfälliger Anhang an der reifen Spore. Oft wurde dieses Organ Dauerspore genannt, und zwar aus zwei Gründen: Erstens weil diese Spore faktisch eine weit grössere Dauerhaftigkeit und Resistenz gegen äussere Einflüsse als die vegetativen Fäden besitzt und zweitens, weil die

Sporenbildung als Regel dann eintritt, wenn die Nahrung der Vegetation entweder erschöpft oder ungeeignet zur weiteren vegetativen Vermehrung der Organismen ist; die Spore dient dann dazu, das Leben während dieser kritischen Periode zu bewahren.

Sobald wieder günstige Nahrungs- und Temperaturverhältnisse eintreten, keimt die Spore. Sie nimmt zuerst an Grösse zu, und der Inhalt verliert sein starkes Lichtbrechungsvermögen. Es wächst dann aus der Spore eine Bacterie hervor, und bisweilen sieht man, wie die Wand der Spore berstet und sich in zwei Klappen teilt (cf. Fig. 8: 18, 19). Der ausgewachsene Faden vermehrt sich danach in der gewöhnlichen Weise.

Zuletzt müssen wir noch ein Glied in der Formenlehre der Bacterien nennen, die sogenannte Zoogloeenbildung. Es ist in allen Zweigen der Gärungsindustrie bekannt, dass an Orten, wo die Reinigung nicht genau überwacht wird, schleimige, fettige Massen auftreten können, welche nach und nach an Dicke zunehmen. Die Ursache hierzu ist gewöhnlich eine Bacterienentwickelung, in der Weise, dass die einzelnen Zellen sich dicht an einander lagern und gleichzeitig in den äusseren gelatinösen Schichten der Zellwand stark anschwellen; während der fortgesetzten Vermehrung nimmt also die Schleimschicht an Dicke zu und kann gleichzeitig bestimmte, eigentümliche Formen annehmen. Solche schleimige Massen — in der Zuckerfabrikation als „Froschlaich“ bekannt — treten sowohl auf fester Unterlage als auch in Flüssigkeiten auf.

Wir geben hiernach eine Ubersicht über die wichtigsten der Arten, welche für die Gährungsindustrie von besonderer Wichtigkeit sind.

1. Das Buttersäureferment (Clostridium butyricum), welches in der Natur sehr verbreitet zu sein scheint, tritt in der zuckerhaltigen Maische immer auf und kann, wenn diese längere Zeit auf gewissen Temperaturen erhalten wird, sich stark entwickeln und einen hemmenden Einfluss auf das Alkoholferment ausüben. Man kennt den Pilz in Gestalt von kurzen und langen Fäden und Stäben, welche gerade oder schwach gekrümmt sein können; vor der Bildung der Sporen in den Stäben schwellen diese an und bilden, wie die Figur zeigt, eigentümlich spindelige, citronenartige, ellipsoidische oder Keulen-Formen; gleichzeitig tritt der

merkwürdige Fall auf, dass sie durch Jod blau gefärbt werden. Bei der Keimung der Spore berstet ihre Aussenwand, und der Keimfaden wächst in derselben Richtung hinaus wie die Längs-

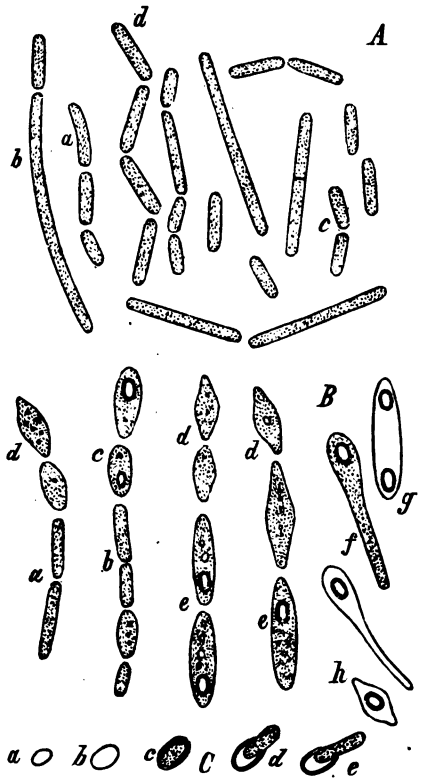

Fig. 9.

Clostridium butyricum PRAZM.

A vegetative Zustände, *c* Kurzstäbchen, *d* Langstäbchen, bei *a* und *b* vibrionenartig gekrümmte Stäbchen und Fäden. *B* Dauersporenbildung; *b*, *d* Stäbchen vor, *c*, *e* während, *f*, *g*, *h* nach der Dauersporenbildung; *c* von ellipsoidischer, *d* und *h* von citronenförmiger, *e*, *g* von spindeliger, *f* von kaulquappenartiger Form. Bei *a* Stäbchen, die noch im vegetativen Zustande befindlich sind. *C* Keimung der Dauersporen; die Spore *a* schwillt an, *b* zeigt dann die Differenzierung der Membran in Exo- und Endosporium *c*. Aus dem polaren Riss der Spore tritt der vom Endospor umgebene Inhalt in Form eines Kurzstäbchens heraus, *d*, das sich bei *e* bereits verlängert hat (nach PRAZMOWSKI).

achse der Spore. PASTEURs Beobachtungen zufolge kann das Buttersäureferment seine Lebensfunktionen erfüllen, ohne Zutritt zum freien Sauerstoff der Luft zu haben. Unter der Gärung vermag sie Stärke und Cellulose zu lösen. Das Clostridium butyricum entwickelt sich am kräftigsten bei einer Temperatur von nahezu 40° C. und wird in zuckerhaltigen Flüssigkeiten namentlich dann dominieren können, wenn das Milchsäureferment im voraus einen Teil des Zuckers zu Milchsäure umgebildet hat. Aus demselben Grunde tritt es während des Lagerns und der Reife der Käse stark auf und trägt dazu bei, diesen ihren eigentümlichen Geruch und Geschmack zu geben. Nach FITZ können die Sporen die Temperatur des Kochpunktes vertragen in einer Zeitdauer, welche selbstverständlich hier wie immer von ihrem Zustande abhängig ist und von der Beschaffenheit des Stoffes; FITZ giebt 3—20 Minuten an. Sie können jedoch auch bei einer niedrigeren Temperatur getötet werden, wenn diese lange genug innegehalten wird; so werden sie nach einer 6stündigen Erwärmung in Traubenzuckerlösung bei 90° C. getötet, in Glycerin bei derselben Temperatur erst nach 6—11 Stunden. Findet sich Buttersäure im Biere in merkbarer Menge, so bekommt dies einen sehr unangenehmen Geschmack.

Es gilt für die Buttersäuregärung wie für die hiernach zu beschreibende Milchsäuregärung, dass sie nicht ausschliesslich durch eine Art hervorgebracht wird. Wenn die Buttersäuregärung in Brennereien, Brauereien und Presshefefabriken eintritt, wird man sicher in mehreren Fällen ganz andere Bacterien als die unter dem Namen Clostridium butyricum beschriebenen finden.

2. Die verschiedenen Bacterienarten, welche Milchsäuregärung hervorrufen, sind noch nicht genau bekannt. In Études sur la bière hat PASTEUR auf der ersten Tafel einen Organismus abgebildet, welcher milchsaure Gärung hervorruft und als kurzes Stäbchenbacterium und Mikrococcus auftritt. Später hat HUEPPE in einer spontanen Milchsäuregärung ein Bacterium gefunden, welches den Milchzucker und andere Saccharate in Milchsäure überführt unter gleichzeitiger Bildung von Kohlensäure. Es besteht aus kurzen, plumpen, endständig endogene Sporen bildenden Zellen. Im Speichel und Zahnschleim fand er zwei Mikrococcen-

Species, welchen gleichfalls die Fähigkeit zukommt, aus Zucker Milchsäure zu bilden. Auch unter den pigmentbildenden Bacterien finden sich Arten, welche neben ihrer Pigmentgärung aus Milchzucker so viel Milchsäure zu bilden vermögen, dass das Caseïn der Milch in gelatinöser Form zum Gerinnen kommt; hierzu gehört nach HUEPPE der berühmte rote Mikrococcus prodigiosus und nach KRAUSE eine pathogene Form, der Mikrococcus der Osteomyelitis. DELBRÜCK fand, dass in einer Maische, aus Trockenmalz und Wasser dargestellt, zuerst bei ca. 50° C. Milchsäure gebildet wurde, und er zog daraus den Schluss, dass das hier wirksame Milchsäureferment seine Optimumstemperatur bei diesem Wärmegrade hat.

Die Milchsäuregärung tritt in der Brauerei schon bei dem Mälzen auf, ferner in der Würze und bei der Nachgärung; in den belgischen, durch „Selbstgärung" hergestellten Bieren bildet sich Milchsäure in grosser Menge, wodurch die Biere einen scharfen Geschmack bekommen. In modernen untergärigen Brauereien sucht man sowohl Milchsäure- wie überhaupt Bacterien fern von der Gärung zu halten. „In der Brennerei," sagt MAERCKER, „sind sie vorläufig noch als ein notwendiges Übel anzusehen. Die Erzeugung der Milchsäure erfolgt bei der Hefebereitung, und ihr Wert scheint sich darauf zu reduzieren, dass dieselbe die Entwickelung von Bakterien verhindert und auf diese Weise die Reingärung der Alkoholhefe ermöglicht."

3. Das Essigsäureferment (Mycoderma aceti und M. Pasteurianum) ist von der morphologischen Seite zuerst und sehr eingehend von HANSEN beschrieben worden. In Études sur le vinaigre 1868 gab PASTEUR eine Darstellung seiner Versuche mit diesem Bacterium und einer darauf basierten Methode zur Essigfabrikation. Während PASTEUR im genannten Werke nicht ausdrücklich die Auffassung aufrecht hält, dass dieser Organismus die physiologische Ursache der Verbrennung des Alkohols zu Essigsäure ist, spricht ADOLF MAYER diese Auffassung aus, und HANSEN hebt als sicher hervor, dass die Essigsäurebildung allgemein unter der Einwirkung dieses Organismus vor sich geht. Beim Anbringen von Lagerbier im Thermostaten bei 30—34° C. bekam HANSEN eine kräftige Kahmhautbildung des Essigsäurebacteriums. Dasselbe tritt mit langen Ketten von stundenglas-

förmigen Gliedern auf, teils als Bacterium und Bacillus, teils mit gebuchteten Formen; eigentümlich für Myc. aceti ist, dass es sehr schnell die verschiedenartigen, unregelmässig geschwollenen Formen bildet, welche bei anderen Bacterien erst in einem weit vorgerückten Stadium auftreten nnd dann möglicherweise mit mangelhafter Ernährung in Verbindung stehen; dies kann jedoch für unseren Organismus nicht gelten. Wir haben hier eines der ersten Bacterien, bei welchem es nachgewiesen wurde, dass dieselbe Art in sehr verschiedenen Gestalten auftreten kann. Bei

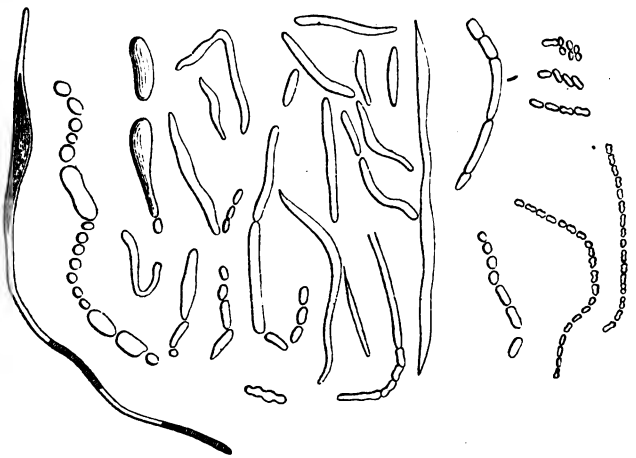

Fig. 10.

Mycoderma aceti und Myc. Pasteurianum (nach HANSEN).

seinen Färbungs-Versuchen mit Myc. aceti entdeckte HANSEN, dass sich unter diesem Namen zwei verschiedene Arten bergen, von welchen die eine — wie die meisten übrigen Bacterien — mit Jod gelb gefärbt wird, während die andere durch dasselbe eine blaue Färbung erhält. In allen anderen Richtungen verhalten sie sich einander gleich. Eine Thatsache von Interesse ist die von HANSEN gemachte Beobachtung, dass eine Reinkultur der zwei Mycodermaarten im Biere keinen Einfluss auf die Farbe oder Klarheit der Flüssigkeit ausübt. Man kann sich hierdurch bis zu einem gewissen Grade vergewissern, ob man diese Pflanze

für sich allein hat oder nicht, indem nämlich Bacterien im Biere sonst eine Trübung der Flüssigkeit herbeiführen. Um sich recht entwickeln zu können, fordert das Myc. aceti nicht nur sehr reichlichen freien Sauerstoff, sondern auch eine ziemlich hohe Temperatur. HANSEN fand, dass ca. 33° C. die günstigste war, wenn Carlsberger Lagerbier benutzt wurde. In einem wohl eingerichteten Lagerkeller (1—3° C.) hat man daher keinen Grund, Mycoderma aceti zu fürchten. Sobald das Bier aber den Keller verlässt und höheren Temperaturen ausgesetzt wird, ist immer Gefahr vorhanden.

PASTEUR hat nachgewiesen, dass bei der Oxydation alkoholischer Flüssigkeit Äthyl-Alkohol zu Essigsäure, und bei fortgesetzter Oxydation diese letztere wieder zu Kohlensäure und Wasser umgebildet wird. Dies wurde in der letzten Zeit von A. J. BROWN bestätigt, welchem wir die ausführlichsten chemischen Analysen in dieser Richtung verdanken.

Namentlich in Frankreich wird die auf PASTEURs Theorie gegründete Methode im grossen zur Essigfabrikation benutzt; die so eingerichteten Fabriken arbeiten nach WURM 7—12 mal so schnell als jene nach der gewöhnlichen älteren Methode eingerichteten.

Nach Mitteilungen von HANSEN giebt es auch unter den im Biere allgemein vorkommenden Bacterien mehrere Arten, welche invertierende Fermente ausscheiden. Innerhalb dieser Arten findet sich wieder eine Gruppe, welche zwar in einer reinen Saccharoselösung eine invertierende Wirksamkeit entfaltet, die aber damit innehält, wenn ein Hefenwasserdecoct zugesetzt wird. Ähnliche Verhältnisse wurden von WORTMANN bei solchen Bacterien beobachtet, welche diastatische Fermente entwickeln. Die Bildung chemisch löslicher Fermente ist überhaupt sehr allgemein verbreitet in der Welt der Bacterien, und hierin findet man eines der Mittel, durch welche diese Lebewesen eine so grossartige chemische Wirksamkeit im Haushalte der Natur entfalten.

4. Ausser den genannten Bacterienarten treten ferner in gärenden Flüssigkeiten eine Menge anderer Formen auf, deren Lebensbedingungen nur sehr unvollständig bekannt sind. Sowohl bei der Untergärung als bei der Obergärung (namentlich in

Brennereien und Presshefenfabriken) treten Mikrococcen auf, deren schädlicher Einfluss in den Fachzeitschriften stark hervorgehoben wird. In der Branntweinmaische treten sie sowohl vereinzelt als auch in Doppelkugeln und perlschnurartig auf; im untergärigen Lagerbier als mehr oder weniger kugelförmige, wassergraue, kleine Körper, die in Gruppen, meist zu vieren geordnet, auftretend; sie wurden von HANSEN unter dem Namen Sarcina (Fig. 11) beschrieben. Von diesen letzteren wissen wir, dass sie teils die Flüssigkeit trübe machen können, teils ihr einen unangenehmen sauren und bitteren Geschmack geben; ferner, dass sie sich nur langsam entwickeln, wenn die Temperatur im Lagerkeller sich unter 5—6° C. hält.

Fig. 11. Sarcina.

REINCKE hatte nach Mitteilungen in der Wochenschrift für Brauerei oft Gelegenheit, sowohl unter- als obergäriges Bier zu untersuchen, welches von Sarcina angegriffen war; er giebt an, dass das Lagerbier schnell eine bedeutende Sedimentbildung hervorbrachte und einen schlechten Geschmack und Geruch erhielt. Das bekannte Berliner Weissbier nahm oft eine rote Farbe an und war in diesem Falle immer von Sarcina angesteckt; die Entwickelung nahm nach einigen Tagen bei etwas erhöhter Temperatur beträchtlich zu. Temperaturen von 10—14° C. schienen besonders günstig zu sein. Der Verfasser hebt mit Recht hervor, dass es nicht sicher ist, ob Sarcina oder die ebenfalls auftretenden Stäbchenbacterien die eigentliche Ursache zur Kalamität sind — man weiss nur, dass die Sarcina z. B. im roten Biere abnormale Zustände kennzeichnet; ob sie Ursache oder Wirkung ist, muss durch exakte Forschung bewiesen werden.

S. v. HUTH gab in der „Allgem. Zeitschr. für Bierbrauerei und Malzfabrikation“ in Wien Mitteilungen über das Vorkommen sarcinaartiger Organismen an verschiedenen Orten und nimmt an, dass die im Lagerbiere auftretenden sarcinaartigen Formen vom Eiswasser herrühren, und durch das Kühlschiff, die Rohrleitungen, Schläuche, Filtriersäcke, Gerätschaften u. s. w. in das Bier gelangen.

Die Speziescharaktere der in verschiedenen Grössen hier auftretenden Mikrococcen kennt man nicht. Es ist daher vorläufig unmöglich, Fragen über ihre Lebensbedingungen und ihr mög-

liches Vorkommen an anderen Orten zu beantworten. Wie bekannt, finden sich nicht wenige Mikrococcen, welche morphologisch mit Sicherheit nicht unterschieden werden können, aber höchst verschiedene pathogene Eigenschaften besitzen.

5. Infolge der kürzlich von LAURENT ausgefürten Untersuchungen ist der am wesentlichsten wirksame Faktor bei der Gärung des Schwarz- oder Roggenbrotes nicht, wie bisher angenommen, eine Hefenart (Saccharomyces minor Engel), sondern eine Bacterienform, welche er Bacillus panificans genannt hat. (Bei der Zubereitung des Weissbrotes ist dagegen wie früher die Alkoholhefe, Saccharomyces, als das wirksame Ferment zu betrachten.) Wenn er diese Bacterie rein kultivierte und eine solche Kultur dem Brodteige zusetzte, wurden ganz dieselben Phänomene hervorgerufen, als wenn der gewöhnliche Sauerteig verwendet wurde. In Kulturen auf Gelatine rief diese Bacterie bleichchromgelbe, im durchfallenden Lichte graubraune, Kolonien von runder Begrenzung hervor; ihre Entwickelung geht sehr langsam vor sich, und sie greifen die Gelatine nicht an. Führt man mit einer Nadel einen verdünnten Tropfen in ein Reagiergläschen mit Gelatinenahrung, so wird in der Gelatine eine Reihe von Kolonieen gebildet, und an der Oberfläche entwickelt sich langsam eine grosse Kolonie, welche an den Rändern wie ein Abschnitt eines Farnblattes eingekerbt ist. Der Bacillus entwickelt sich sowohl unter Zutritt der gewöhnlichen Luft als auch ohne freien Sauerstoff und hat seine Optimumstemperatur bei 33—34°, entwickelt sich aber bei Temperaturen von 6—45°. In den ersten Tagen der Kultur tritt er als kurzes bewegliches Stäbchen auf, später als langer Bacillus, welcher eine Haut auf der Nährflüssigkeit hervorbringt und Sporen bildet; diese werden, bei einer Temperatur von 100° C. gekocht, erst nach 10 Minuten getötet. Der Bacillus löst namentlich den Glutenstoff des Teiges leicht, entwickelt sich in Stärkekleister und in Mischungen von Saccharose und mineralischen Stoffen. Man findet ihn in grosser Menge lebendig im Brote, und er kann nach des Verfassers Untersuchungen 20 Stunden lang der Einwirkung eines künstlichen Magensaftes widerstehen. In den Exkrementen trifft man ihn noch häufiger, und er scheint auf Pflanzen und in verschiedenen Stoffen allgemein verbreitet zu sein.

6. Ein Phänomen, welches bisher nur teilweise aufgeklärt wurde, ist die sogenannte Schleimgährung, welche z. B. eintritt, wenn zuckerhaltige Säfte von Pflanzenteilen ausgeschieden werden. Man findet dann immer Mikroorganismen in dieser Schleimbildung, welche man ebenso wiederholen kann, wenn diese Organismen in neuen Pflanzensaft eingeführt werden. So hat PASTEUR in Études sur la bière auf Tab. I Fig. 4 rosenkranzförmige Ketten von kugelförmigen Organismen abgebildet, welche den Wein, das Bier und die Würze fadenziehend machen; sie treten in der Würze selten auf, noch seltener in dem Biere (cfr. Fig. 12). Ferner findet man in solchem Schleim unregelmässige Zellen von beträchtlicher Grösse, welche noch nicht genauer bekannt sind. Während der Entwickelung des Schleimes wird Kohlensäure und oft zugleich Mannit gebildet. Nach allen Analogieen darf dieser Schleim als ein der bei den Bacterien allgemein auftretenden Zoogloeenbildung nahestehendes Phänomen aufgefasst werden; er wird jedoch auch als ein Umwandlungsprodukt des Zuckers aufgefasst.

7. Die sogenannte „Kephir", über welche Kern Aufklärungen gegeben hat, ist eine schäumende, alkoholhaltige, saure Milch, welche von den Bewohnern des Kaukasus aus Kuh-, Ziegen- oder Schafsmilch zubereitet wird. Sie wird dadurch dargestellt, dass man zur Milch ein eigentümliches Ferment, die Kephirkörner, setzt. Es sind dies weisse, unregelmässig geformte, unebne Körner von der Grösse bis zu einer Wallnuss und von zäh gelatinöser Konsistenz, welche bei Austrocknung knorpelig spröde werden. Die wesentlichste Masse dieser Körner besteht aus stäbchenförmigen Bakterien, welche zu Fäden verbunden sind und schleimartige Membranen entwickelt haben. KERN nennt sie Dispora caucasica. Ferner findet sich in den Kephirkörnern ein hefenähnlicher Pilz. Beim Zubereiten der Kephir giesst man zuerst ein wenig Milch auf die Körner und lässt sie 24 Stunden stehen, giesst die Milch ab und bewahrt die Körner zu fernerer Verwendung auf. Diese Milch wird nun mit frischer Milch vermischt und auf Flaschen, die gekorkt werden, oder auf zugebundene lederne Säcke gefüllt; nach einigen Tagen hat sie eine Gärung entwickelt. Sie enthält jetzt bis zu 2 pCt. Alkohol. Dieses Resultat wird wahrscheinlich gleichzeitig von der erwähnten Dispora und den hefenähnlichen Zellen in Verbindung mit dem möglicherweise in der Milch immer vor-

kommenden Milchsäureferment hervorgerufen. Das letztgenannte verwandelt dann einen Teil des Milchzuckers in Milchsäure; der Alkohol und ein Teil der Kohlensäure rührt vielleicht von den hefenähnlichen Zellen her, da sie in Glycoselösung eine schwache Alkoholgärung hervorrufen können, und es sind dann vermutlich andere Bacterien gegenwärtig, welche zuerst den Milchzucker umwandeln. Da die vergorene Milch eine bedeutend geringere Menge von geronnenem Caseïn als die gewöhnliche Sauermilch enthält, wird ferner angenommen, dass die genannte Dispora dazu im stande ist, das geronnene Caseïn teilweise zu verflüssigen (peptonisieren), vielleicht gerade mit Hilfe der vom Bacterium ausgeschiedenen gelatinösen Masse, welche sich in den Kephirkörnern findet, während sie in der gärenden Milch nicht vorhanden ist. — Lässt man eines der genannten Kephirkörner in Milch liegen, dann wächst es sehr langsam und erreicht, nach DE BARYs Versuchen, erst nach mehreren Wochen seine doppelte Grösse; der gen. Forscher hält es für wahrscheinlich, dass unter solchen Verhältnissen einzelne Disporaglieder austreten, welche zu neuen Kephirkörnern heranwachsen.

8. Der sogenannte „Dextrangärungspilz", Leuconostoc mesenterioides (Fig. 12) tritt spontan in dem Rübensaft und der Melasse der Zuckerfabriken auf, wo er grosse, schleimige Klumpen (Froschlaich) bildet und sich reissend schnell vermehrt. Nach VAN TIEGHEM vermag der Pilz ein Ferment auszuscheiden, welches den Rohrzucker invertiert, den er so zu seiner Ernährung benutzt; da er sich so stark vermehrt, kann er in kurzer Zeit bedeutende Quantitäten von Zucker verzehren. Die von dem Pilze gebildete Schleimmasse (Dextran) ist glashell und schliesst in sich die perlschnurartigen Fäden des Pilzes ein.

9. Wie wir oben den Heubacillus (Bacillus subtilis) als eines der in der Luft und auf den Pflanzen am häufigsten auftretenden Bacterien besprachen, so müssen wir noch zuletzt eines der im Wasser am häufigsten vorkommenden Bacterien nennen: die Crenothrix Kühniana oder Brunnenpest (Fig. 13).

In jedem Wasser, welches organische Substanzen enthält, tritt dieser Pilz (häufig von Beggiatoa alba begleitet) auf; bisweilen entwickelt er sich zu einer solchen Mächtigkeit, dass er

das Wasser unbrauchbar machen kann. So wurden nach ZOPF durch diesen Pilz in den Wasserleitungen Berlins, Lilles und denen russischer Städte grosse Kalamitäten hervorgerufen. Durch seine Fähigkeit, Eisenverbindungen in seinen Wänden einzulagern, bildet

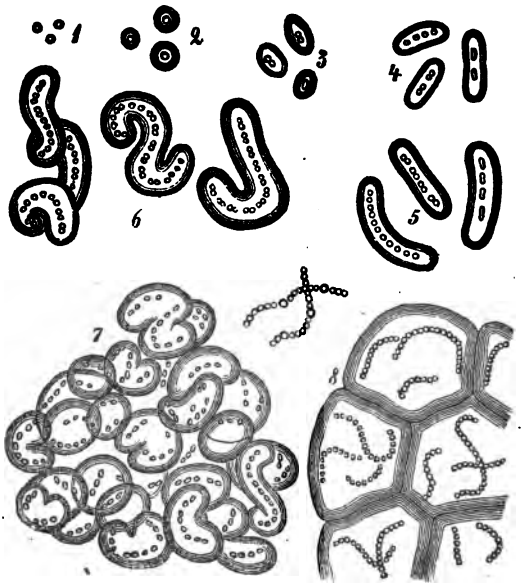

Fig. 12.

Froschlaichpilz, nach VAN TIEGHEM und CIENKOWSKI.

1 Sporen, 2 Sporen nach der Auskeimung, mit stark vergallerter Membran, 3, 4, 5, 6 successive Stadien der Coccenteilung und Vergallertung bis zu gekrümmten Formen, 7 ein Glomerulus von kleinen Zoogloeen, 8 Durchschnitt durch ein älteres Stadium einer zusammengesetzten Zoogloea mit ziemlich langen torulaartigen Fäden, 9 Coccenketten, von einzelnen Sporen unterbrochen, die sich vor den Coccen durch ihre Grösse auszeichnen.

er rötliche oder braune Flocken im Wasser. Seine Formen sind sehr schön: er tritt in Form von Coccen, welche durch Teilung und Schleimbildung Zoogloeen bilden, auf; diese Coccen wachsen zu Fäden aus, welche gegliedert und mit deutlicher Scheide versehen sind; sie nehmen an Dicke gegen die Spitze hin

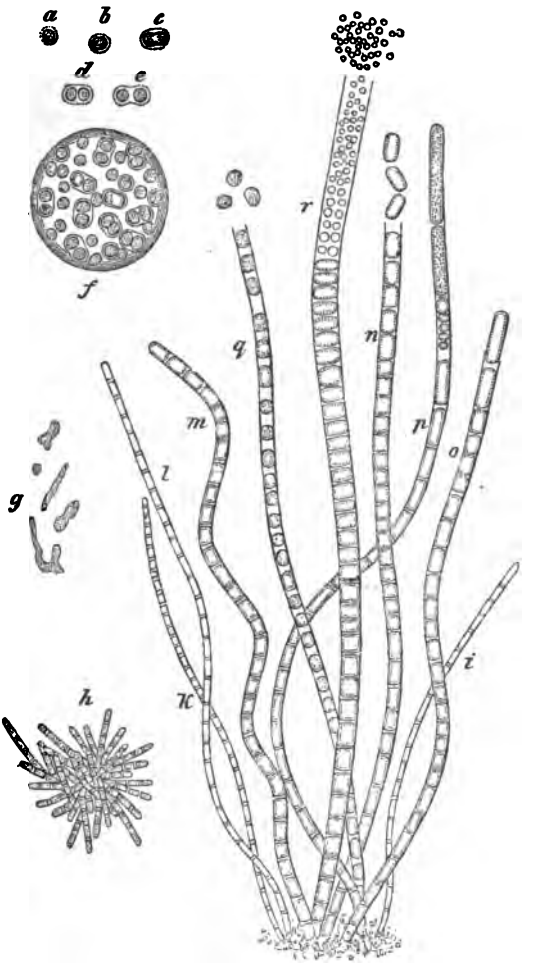

Fig. 13. Chrenothrix Kühniana nach ZOPF.

a — *e* Coccen in verschiedenen Stadien der Teilung, *f* kleine rundliche Coccenzoogloea, *g* (natürliche Grösse) Zoogloea, *h* Kolonie von kurzen, aus stäbchenförmigen Zellen bestehenden Fäden, durch Auskeimung eines Coccenhäufchens entstanden; *i*—*r* Fadenformen, z. T. gerade, z. T. spiralig gekrümmt (*l m*) von sehr wechselnder Dicke, mehr oder minder ausgesprochenem Gegensatz von Basis und Spitze, verschiedenen Teilungsstadien ihrer Glieder und Scheidenbildung. Der bescheidete Faden *r* zeigt am Grunde Kurzstäbchen, die mehr nach oben in niedrige Cylinderstücke geteilt sind. An der Spitze sieht man die durch Längsteilungen der Cylinderscheiben entstandenen Coccen.

zu; wenn sie ein gewisses Alter erreicht haben, teilen sie sich innerhalb der Scheide in kleinere Stücke, welche sich abrunden und als Stäbchen, Makro- oder Mikrococcen heraustreten; diese können im Wasser herumschwärmen. Eine genauere Kenntnis der Lebensverhältnisse dieses schönen Bacteriums besitzen wir noch nicht.

---

4. Kapitel.

Die Schimmelpilze

greifen gewöhnlich in einer etwas anderen Weise als die Bacterien in die Gärungsindustrie ein. Während diese — in den Brennereien als Regel, in den Brauereien ausnahmsweise — unter der Gärung mit grosser Kraft auftreten und dadurch bedeutsame Änderungen im Verlaufe und in den Resultaten der Gärung hervorrufen können, treten dagegen die Schimmelpilze meistens ausserhalb des eigentlichen Gärungsfeldes auf, indem sie sich auf Gefässen, Geräten, Räumlichkeiten, auf dem Grünmalze und der ruhenden Hefenmasse einnisten. Demzufolge haben die Schimmelpilze mehr untergeordnete, aber nichtsdestoweniger recht wesentliche Bedeutung. Man untersuche nur genauer einen solchen Schimmelrasen, welcher sich an der Decke oder der Wand eines Gärungsraumes oder am Rande eines Gefässes entwickelt hat; es wird sich dann sehr bald ergeben, das wir es so gut wie niemals mit einer Schimmelvegetation allein zu thun haben; es treten beinahe immer unter den Schimmelfäden Bacterien und hefenähnliche Zellen auf. Die Fäden der Schimmelpflanze strecken sich in die Höhe und heben dadurch die fremden Elemente, welche in dieser exponierten Stellung leichter, teils von den Arbeitern, teils von der Luft fortgeführt werden. — Auf den stärkehaltigen Rohstoffen treten während ihrer Vermälzung alle Arten von mikroskopischen Mikroorganismen auf. Wenn gewöhnlich die Schimmelpilze als die ärgsten Feinde erwähnt werden, dann hat dies gewiss darin seine Ursache, dass sie während der Entwickelung

selbst dem blossen Auge sichtbar sind und sich so ganz unmittelbar unserer Aufmerksamkeit aufdrängen. Würde man die Anzahl als entscheidend aufstellen, dann müssten sicherlich die Bacterien, welche auf dem Grünmalze immer in grosser Zahl zugegen sind, in erste Linie gestellt werden. Von dieser Seite beurteilt, darf es denn auch als zweifelhaft angesehen werden, ob man den Schimmelpilzen (Penicillium, Aspergillus u. s. w.), wenn sie in reichlicher Entwickelung auf dem Malze getroffen werden, den stärksten Einfluss auf das Produkt zuschreiben muss, ob es nicht vielmehr eher ihre zahlreichen Begleiter sind, welche hier die wesentlichste Rolle spielen.

An der Oberfläche von Stückchen gepresster Hefe fand ich oft einen feinen weissen Belag, welcher am häufigsten aus einem Schimmelmycelium bestand, namentlich zu Chalara- und Dematiumähnlichen Formen gehörend. Es ist wohl möglich, dass diese Pflanzen, wenn sie eine dichtere Schicht an der Oberfläche der Hefenmasse bilden, durch ihre Atmung einen Teil des freien Sauerstoffs zurückhalten, welcher für die ruhende Hefenmasse notwendig ist, um sich längere Zeit lebendig erhalten zu können. Auch hier traf ich immer ohne Ausnahme Bacterienbildungen.

Das Wesentliche ist also nach den in der Praxis gemachten Erfahrungen, dass eine Schimmelbildung beinahe immer als Indikator dafür dienen kann, dass andere zweifellos schädlichere und kräftiger eingreifende Organismen in der Entwickelung begriffen sind. Es ist daher von grosser Bedeutung, dass die Wände in den Gärungsräumen glatt sind; dies erreicht man am sichersten durch die jetzt schon häufig in Anwendung gebrachte Emaillefarbe.

Das Folgende enthält eine Übersicht über die wichtigsten Schimmelformen, welche für die Gärungsindustrie von Interesse sind.

1. Botrytis cinerea (Fig. 14), welche kleine graugelbe Rasen auf feuchten, hinsterbenden Pflanzenteilen bildet und ebenfalls auf der Würze auftreten kann, ist einer der schönsten hierher gehörigen Pilze. Vom graulich braunen Mycelium heben sich senkrechte, gegliederte Fäden, gewöhnlich büschelig gestellt, die Konidienträger. Sie wachsen bis zur Länge von 1 *mm*

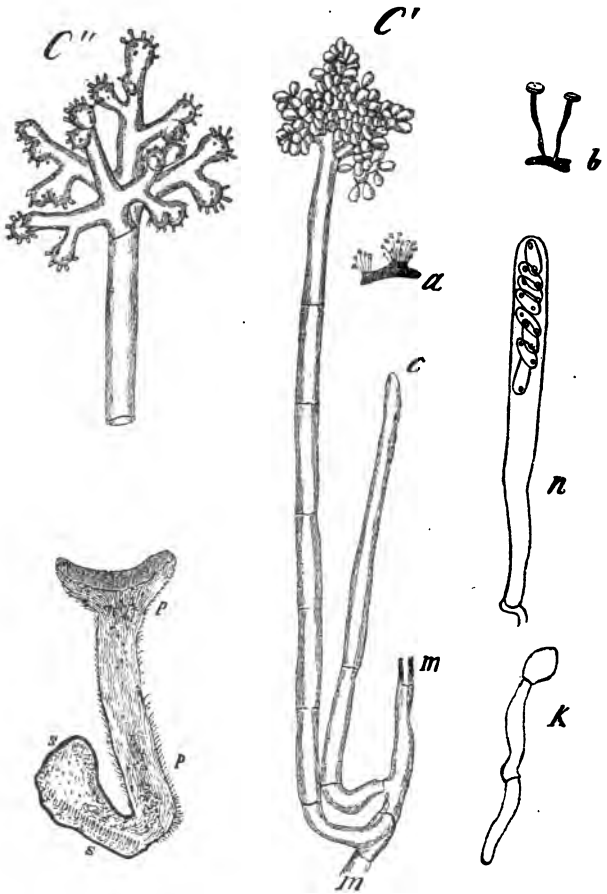

Fig. 14.

Botrytis cinerea, nach DE BARY.

a, *b* (natürliche Grösse) Sclerotien, aus denen bei *a* Conidienträger, bei *b* Schlauchfrüchte hervorwachsen; *c*, *c'* Conidienträger (*c'* mit eben reifen Conidien), von dem Myceliumfaden *m* entspringend (Vergrösserung etwa 200); *c''* Ende eines Conidienträgers mit dem ersten Beginn der Conidienabschnürung auf den Zweigenden; *k* keimende Conidie (Vergr. 300); *p*, *s* (schwach vergr.) Durchschnitt eines Sclerotium *s*, aus welchem ein sehr kleiner Schlauchträger (*p*, *p*) hervorwächst; *n* (Vergr. 300) einzelner Sporenschlauch mit 8 reifen Sporen.

heran, wonach die oberste Gliederzelle nahe ihrer Spitze 2—6 fast rechtwinkelig abstehende Ästchen treibt (*C''*). Die untersten dieser Ästchen sind die längsten; sie treiben unter ihrem Ende wiederum ein bis wenige kurze Seitenzweiglein. Die obersten Äste sind nahezu ebenso breit wie lang. Es entsteht somit ein System von Zweigen, welches einer Blütenrispe oder Weintraube ähnlich gestaltet ist. Nach beendetem Längenwachstume trennen die Äste ihren Innenraum durch eine Querwand dicht bei dem Hauptstamme von diesem ab. Gleichzeitig schwillt das Ende der Zweige und des Hauptstammes blasig an, und auf der oberen Hälfte jeder Anschwellung treten jetzt neben einander mehrere feine Ausstülpungen hervor, die rasch zu ovalen, plasmaerfüllten Bläschen anwachsen, welche an ihrer Basis stielartig verschmälert sind. Bei völliger Entwickelung dieser Konidien (*C'*) sind die Wände der tragenden Äste eingeschrumpft, und die Konidien werden dadurch einander so viel genähert, dass sie eine lockere, unregelmässige Anhäufung bilden, welche leicht abfällt. Bringt man diese Traube in Wasser, so lösen sich die Konidien von ihren Stielen, die plasmaleeren Häute der Äste schrumpfen ein oder sind nur spurenweise zu finden; ihre früheren Ansatzstellen am Hauptfaden treten nur als schwach gewölbte Narben hervor. Das nächstobere Glied kann jetzt das zusammengeschrumpfte Endglied zur Seite schieben, in die Höhe wachsen und eine neue Rispe bilden; dies kann sich mehrere Male wiederholen, wodurch der Konidienträger eine beträchtliche Länge erreicht.

Unter gewissen Verhältnissen geht diese Schimmelpflanze in ein eigentümliches Ruhestadium, das sogenannte Sclerotium (scleros = hart) über (*a, b, ps*). Die Mycelfäden verästeln sich überaus reich, und die Äste verflechten sich zu einem lückenlosen Körper von verschiedener Gestalt, kreisrund bis schmal spindelförmig und von wechselnder Grösse, bis zu ein Paar Linien; die äussersten Fadenenden werden braun bis schwarz, und das reife, feste Sclerotium besteht so aus einer äusseren, schwarzen Rinde und einem inneren farblosen Gewebe. Solche Körper sind nach einem — mindestens 1 Jahr — langen Ruhezustande dazu fähig, eine neue Vegetation zu bilden und können insofern mit den Knollen und Wurzelstöcken der höheren Pflanzen verglichen werden. Bringt man das Sclerotium bald nach der Reife auf feuchten

Boden, so brechen die inneren farblosen Zweige durch die schwarze Rinde und heben sich als Konidienträger empor (*a*). Bringt man dagegen die Sclerotien erst nach längerer Ruhe auf feuchte Unterlage, so entwickelt sich aus dem inneren Gewebe ein starkes Büschel von Fäden, welche senkrecht emporwachsen, um sich schliesslich zu einer flach tellerförmigen Scheibe auszubreiten (*b*, *ps*); auf der freien oberen Fläche der Scheibe stellen sich die Fadenenden parallel; einige derselben bleiben dünn, andere schwellen zu keulenförmigen Schläuchen heran, und jeder dieser Schläuche bildet in seinem Innern acht ovale Sporen (*n*). Der Pilz ist jetzt ins Schlauchfruchtstadium eingetreten. Die Sporen keimen nach dem Freiwerden und die Keimfäden wachsen zu Konidienträgern aus.

Nach BERSCH, FITZ und REESS ist diese Pflanze die Ursache einer der Krankheiten des Weines, welche sich als ein unangenehmer rauchähnlicher Geschmack und Geruch äussert. Ähnliche Krankheitsfälle wurden vereinzelt in der Bierbrauerei getroffen; es ist jedoch nicht sicher gestellt, ob sie von diesem Pilze herrühren.

2. Ein Schimmelpilz, welcher sich einer weit grösseren Verbreitung in den Gärungsgewerben erfreut, namentlich auf dem Grünmalze, ist Penicillium glaucum. Er bildet einen zuerst weissen, dann grünlich- oder bläulich-grauen Filz auf dem Substrate und verbreitet sich mit grosser Schnelligkeit. Das Mycel besteht aus klaren, verästelten und geteilten Fäden, welche, wenn sie in Flüssigkeiten untergetaucht sind, etwas unregelmässig anschwellen können. Von diesen Fäden heben sich die Konidienträger (*A*) senkrecht in die Höhe. Sie bestehen aus gestreckt-cylindrischen Zellen, von welchen die Endzelle bald ihr Längenwachsthum sistiert und sich pfriemenförmig zuspitzt; die nächstuntere Zelle treibt ein oder mehrere gegenüberstehende Zweiglein, die sich dicht neben der Endzelle aufrichten und gleich dieser aus einer pfriemenförmigen Zelle bestehen. Bei stärkeren Exemplaren können sich die Äste verzweigen (vergl. Fig. 15 A) oder es entspringen auch von den folgenden Zellen ähnliche Äste, welche sich wie angegeben verzweigen und zuspitzen. In diesem Büschel von Ästen schnürt nun jede zugespitzte Zelle (Sterigma) eine Reihe von kugeligen Konidien ab, und schliess-

lich trägt dann das Büschel einen ganzen Haufen von reihenweise gestellten Konidien, welche, wenn sie reif sind, leicht zerstäuben. Diese runden, glatten Konidien verleihen dem Schimmelrasen die genannte graublaue Farbe; sie können, wenn sie auf feuchte Substrate geraten, sofort keimen. — Bei Kulturver-

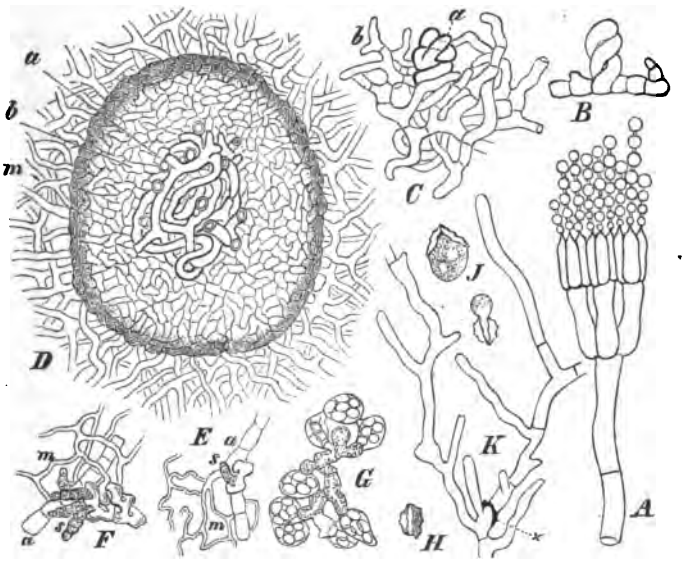

Fig. 15.

Penicillium glaucum nach BREFELD.

A Conidienträger, *B* Geschlechtsorgane, *C* Anlage des Fruchtkörpers (*a* das sich weiter entwickelnde Carpogon, *b* sterile Fäden); *D* sehr junger Fruchtkörper im Querschnitt (*a* ascogene Hyphen, *b* steriler Teil des Fruchtkörpers, *m* Mycelium); *E* und *F* ascogene Hyphen (*a*) mit jungen Schlauchanlagen (*s*) und sterilen mycelartigen Fäden (*m*) aus einem weiter entwickelten Fruchtkörper; *G* Gruppe von Schläuchen mit Sporen; *H* Spore, *I* keimende Sporen, *K* junges Mycelium (bei *x* die Spore).

suchen mit diesem Pilze machte BREFELD die interessante Beobachtung, dass Penicillium unter gewissen Verhältnissen mit einer ganz anderen Entwickelungsform auftreten kann: Er schloss Kulturen des Schimmelpilzes auf Scheiben groben, ungesäuerten Brotes zwischen Glasplatten ein und liess die Kultur unter möglichstem Abschluss der atmosphärischen Luft sich weiter entwickeln. Es treten dann auf dem Mycel paarweise kurze dicke

Äste auf, welche einander umschlingen *(B)*; der eine Teil dieser Schrauben fängt an, kurze Schläuche hervorzutreiben *(C)*, während der die Schraube tragende Mycelfaden zahlreiche feine Äste hervorbringt, welche die Schraube einhüllen und eine Decke bilden *(D)*, die eine innere festere und eine äussere filzartige Schicht besitzt; nach und nach werden die inneren Zellen gelb gefärbt, und die äusseren lockeren Zellen werden abgestossen. In dieser kleinen gelben Kugel findet nun nach und nach durch fortschreitende Verzweigung der obengenannten Schraubenäste eine Bildung von angeschwollenen Zellen statt *(E, F, G)*, in welchen je 8 Sporen entstehen. Diese sind dick linsenförmig, auf der Kante mit einer Ringfurche und auf der äusseren Membran (Exosporium) mit drei bis vier schwachen Rippen versehen. Nach Zusammenfallen und Auflösung aller übrigen inneren Elemente werden endlich die Sporen frei, und die kleine eigelbe Kugel ist jetzt mit dem Sporenpulver gefüllt. Diese ganze Entwickelung dauert 6—8 Wochen. Die Sporenfrüchte können trocken mehrere Jahre aufbewahrt werden, ohne ihre Keimfähigkeit einzubüssen. Sät man die Sporen *(H)* aus, dann springt das Exosporium in der Ringfurche klappenförmig auf, und das Endosporium tritt blasig hervor *(I)*, sich zu einem Keimschlauche verlängernd, welcher alsbald die Konidienträger hervorbringt.

Penicillium besitzt die Fähigkeit, ein invertierendes Ferment auszuscheiden, welches den Rohrzucker in andere Zuckerarten umzubilden vermag.

3. Eurotium Aspergillus glaucus (Fig. 16), dessen Entwickelung zuerst vollständig von dem berühmten DE BARY beschrieben wurde, bildet einen feinen filzigen, gräulichen oder graugrünen Überzug an den verschiedensten Stoffen und kann in ausserordentlicher Üppigkeit auf dem Grünmalze auftreten.

Das Mycelium besteht, wie bei Penicillium, aus feinen, glashellen und verzweigten Fäden, mit Scheidewänden versehen. Einige der Hyphenfäden heben sich senkrecht in die Höhe, sind dicker als die übrigen und nur ausnahmsweise verzweigt, oder durch Querwände geteilt. Ihr oberes Ende schwillt zu einem kugeligen Kolben *(c)* an, und dieser treibt auf seiner ganzen oberen Hälfte stralig divergierende Ausstülpungen von länglicher Form; diese Sterigmen *(s)* treiben dann auf ihrer Spitze

kleine rundliche Ausstülpungen, die mit stark verschmälerter Basis dem Sterigma aufsitzen, und sich nach einiger Zeit als selbstständige Zellen (Sporen oder Konidien) von den Sterigmen abgrenzen. Unter dem Ansatze der ersten Spore entsteht aus dem Scheitel des Sterigmas eine zweite, welche die erste emporhebt, danach eine dritte u. s. w. Jedes Sterigma trägt so eine Kette von Sporen, von welchen die jüngsten dem Sterigma am nächsten sitzen. Dies geschieht gleichzeitig über der ganzen Fläche des angeschwollenen Endes des Konidienträgers, welches dann schliesslich von einem dichten Kopfe strahlig geordneter Sporenketten bedeckt ist; diese Sporenmasse bildet den graugrünen Staub, welcher die Hyphenmasse überkleidet. Schliesslich trennen sich die Sporen von einander; sie sind dann an ihrer äussersten Fläche fein warzig. Diese kleinen Körper können nach ihrer Abtrennung sofort keimen *(p)* und entwickeln alsbald einen neuen Schimmelpilz — hierauf beruht die Schnelligkeit, womit diese Pflanze sich verbreitet. Unter Verhältnissen, welche noch nicht genau bekannt sind, die jedoch jedenfalls eine reichliche Ernährung vorauszusetzen scheinen, entwickelt der Pilz Sporenfrüchte. Sie beginnen als zarte Zweiglein, welche nach beendetem Längenwachstume ihr Ende wie einen Korkzieher in 4—6 Windungen zu krümmen beginnen *(f)*; die Windungen werden nach und nach weniger steil, bis sie schliesslich einander berühren, so dass das ganze Ende des Pilzfadens die Form einer Schraubenlinie angenommen hat (das Carpogon). Es wachsen danach von der untersten Windung der Schraube zwei oder mehrere kleine Zweige empor, welche der Schraube fest angeschmiegt sind. Das eine dieser Zweiglein *(S, T, p)*, das sogenannte Pollinodium, eilt dem andern im Wachstum voraus, erreicht mit seinem oberen Ende rasch den obersten Teil der Schraube und verschmilzt sich mit ihm. Das oder die anderen Zweiglein wachsen gleichfalls längs der Schraube empor, verzweigen sich, und schieben sich neben und zwischen einander, bis sie endlich als eine lückenlose Hülle die Schraube umgeben *(W)*. Diese Zweige teilen sich durch zur Oberfläche senkrechte Wände, und die Hülle besteht somit aus kurzen, eckigen Zellen, worin neue Wände, parallel zur Oberfläche, entstehen, so dass die Hülle mehrschichtig und dicker wird

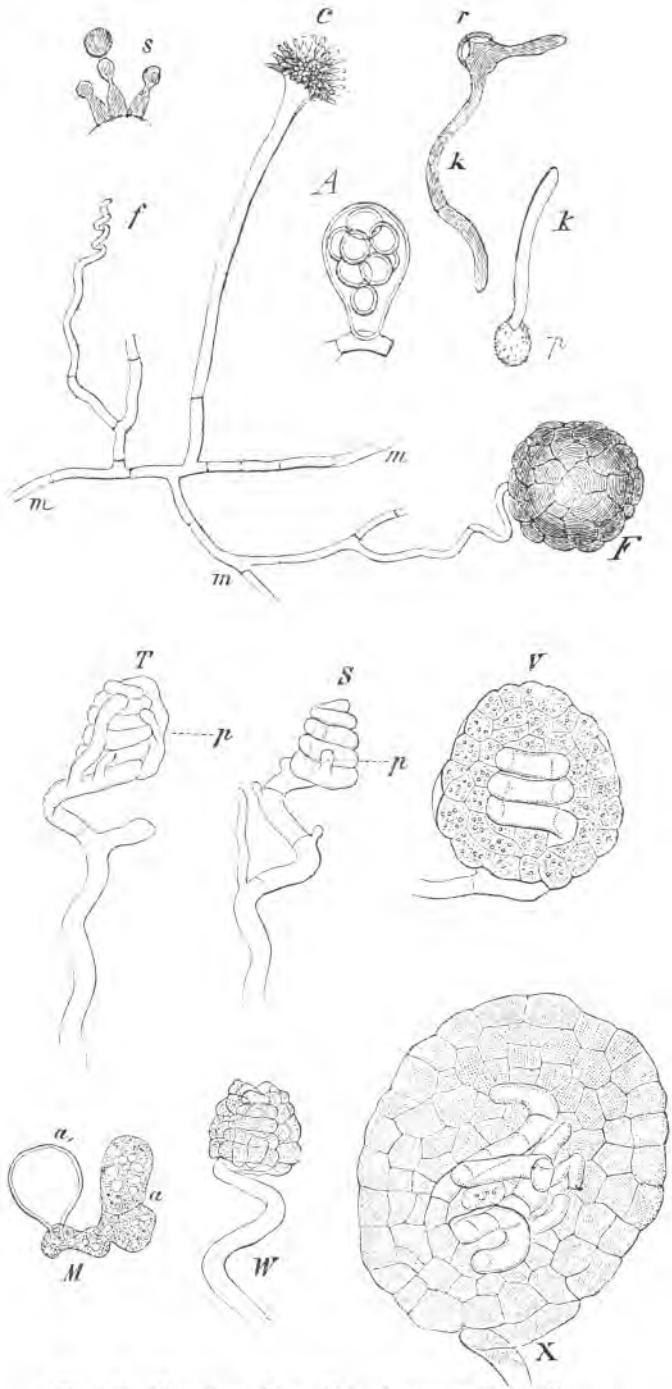

Fig. 16. Eurotium Aspergillus glaucus nach De Bary.

Beschreibung zu Fig. 16.

m m Myceliumfaden, einen Conidienträger *c* (von dem die Conidien abgefallen), eine Schlauchfrucht *F* und die erste Anlage eines Carpogons *f* tragend (Vergrösserung 190fach); *s* drei Sterigmen vom Scheitel eines Conidienträgers, die Conidien-Abschnürung zeigend; *p* keimende Conidie (Vergr. 250—300); *A* Sporenschlauch, *r* keimende Schlauchspore, *k* Keimschläuche; *S* schraubiges Carpogon, bei *p* die Entwickelung des emporwachsenden Pollinodiums beginnend; *T* älterer Zustand; *W* Carpogon, von der Hülle fertig umwachsen; *V* Längsdurchschnitt eines älteren Zustandes, in der Mitte das Carpogon, ringsum die mehrschichtig gewordene Hülle; *X* Längsdurchschnitt eines weiteren Entwickelungszustandes des Carpogons, von vielschichtiger Hülle umgeben, hat seine Windungen gelockert und beginnt die ascusbildenden Zweige zu treiben; *M* Stück eines älteren ascustragenden Zweiges, *a* ein junger, *a*, ein älterer zerplatzter Ascus.

(V, X, F). Die jetzt gebildete kleine Kugel ist etwa $\frac{1}{4}$ *mm* gross, die äusserste Schicht wird gelb, die inneren Schichten bleiben zart und gehen später zu Grunde. Die Schraube streckt sich endlich und treibt nach allen Seiten verästelte Zweige, welche die inneren Schichten der Hülle verdrängen; diese Zweige nehmen endlich Schlauchform an *(M* und *A)*, und in jedem bilden sich acht Sporen. Nach dem Zerfalle der Sporenschläuche liegen die Sporen lose im Innern der Frucht und gelangen durch die Risse der zuletzt brüchig werdenden Wand ins Freie. Die Sporen sind wie bei Penicillium biconvex, warzig und besitzen eine äussere, derbe Membran und eine innere, welche beim Keimen die äussere in zwei Klappen auseinander treibt *(r)*. Ausser dieser Art treten in der Natur verschiedene andere, nahe verwandte auf und finden auch zu den hier besprochenen Lokalitäten ihren Weg. Bei dem grössten Teile dieser Arten kennt man nur das Konidienstadium.

4. Zur Darstellung des japanischen stark vergorenen Reisweines (Saké) wird der sogenannte Aspergillus Oryzae, über welchen AHLBURG, ATKINSON, COHN und BÜSGEN Mitteilungen gegeben haben, planmässig verwendet. Die von den Hülsen befreiten Reiskörner werden gedämpft, doch wird ein Zusammenballen und Verkleistern der Körner vermieden. Um nun aus diesen nicht keimfähigen Körnern, bei welchen folglich die gewöhnliche Diastasewirkung ausgeschlossen ist, ein für das Brauen dienliches Malz darzustellen, vermischt man die Körnermasse mit dem so-

genannten „Tane kosi“ — Reiskörner, welche mit dem Mycel und den Fruchtträgern des Aspergillus Oryzae eingesponnen und überzogen sind. In der feuchten und warmen Luft entwickelt sich nach ca. 3 Tagen auf dem Reis ein weisses, sammetartiges Mycel, welches der Masse einen angenehmen Geruch von Äpfeln oder Ananas verleiht. Ehe die Fruktifikation des Pilzes eintritt, fügt man neue Massen von gedämpftem Reis hinzu, welche wieder vom Mycel umsponnen werden und wiederholt dies mehrere Male. Ein wässeriger Auszug der jetzt erzeugten Koji-Masse zeigt, dass ein Teil der Stärke in Glykose und Dextrin verwandelt ist, und dass einige der früher in Wasser unauflösbaren Albuminstoffe lösbar gemacht sind. Insofern der genannte Aspergillus der einzig wirkende Faktor ist, hat er verschiedene, auch diastatisch wirkende Fermente ausgeschieden; ein wässeriger Auszug des Schimmelmycels zeigt faktisch diastatische Eigenschaften. Die Kojimasse wird gemaischt, indem man 21 Teile Koji und 68 Teile Reis bei Dampf gekocht mit 72 Teilen Wasser vermischt. Diese breiartige Masse wird sich selbst überlassen, bei ca. 20° nach wenigen Tagen klar, die Verzuckerung der Stärke und Dextrinen schreitet immer weiter fort und gleichzeitig tritt eine spontane, sehr heftige Gärung ein, durch einen hefenartigen Pilz bewirkt, welcher mit dem Aspergillus nicht in genetischer Verbindung steht und nicht genauer bekannt ist. Nach 2 bis 3 Wochen ist die Gärung beendet, und das Produkt ist eine gelbe, blanke, Sherryähnliche Flüssigkeit mit einem Gehalte von 13—14 pCt. Alkohol.

5. Das Genus Mucor gehört zu den interessantesten der Gruppen von Schimmelpilzen, welche uns hier beschäftigen, indem es Formen mit stark ausgeprägten Fermentwirkungen enthält. Sie treten als ein grauer oder brauner Filz von bisweilen ganz bedeutender — mehrere Zoll — Höhe auf, in welchem das blosse Auge feine gelbe, braune oder schwarze Kügelchen unterscheidet.

Wir geben eine Beschreibung der häufigst vorkommenden Formen.

Mucor Mucedo (Fig. 17), eine der prachtvollsten Schimmelformen, welche z. B. auf dem Miste pflanzenfressender Tiere sehr allgemein auftritt, hat ein glashelles, weisses Mycelium, welches

sich auf und in der Unterlage stark und fein verästelt und in gewissen Entwickelungsstadien ohne Scheidewände, also einzellig ist. Von diesem Mycelium heben sich einfache, kräftige Äste empor, die Sporangienträger; die Spitzen dieser Äste schwellen stark, und unter der Anschwellung wird endlich eine Scheidewand gebildet, wodurch das Sporangium vom Sporangienträger abgegrenzt ist. Die Scheidewand wölbt sich nach oben und bildet ein „Säulchen" (columella) im Innern der kugelförmigen Anschwellung, wodurch ein Innenraum von eigentümlicher Form (1) entsteht. Das Protoplasma dieses Raumes zerfällt in eine Menge kleiner Portionen, die sich mit einer Haut umgeben und sich abrunden; das sind die Sporen. Gleichzeitig wird diese Sporenfrucht an ihrer Aussenseite mit feinen, nadelförmigen Krystallen oxalsauren Kalkes bekleidet. Sobald die reife, braune Sporenfrucht Feuchtigkeit aufnimmt, wird die Wand aufgelöst, und die Sporen werden nach allen Seiten hin mit dem schwellenden Inhalte des Sporangiums zerstreut. Am Ende der Fruchthyphe sitzt noch das „Säulchen", welches sich in der Frucht emporhob; dieses ist jetzt unten von einem Kragen umgeben, dem Reste der Fruchtwand (2). Die lichtbrechenden Sporen schwellen, wenn sie in geeignetes Substrat fallen, sehr stark an und senden einen oder zwei Keimfäden (3, 4), aus, welche schnell ein kräftiges Mycelium entwickeln.

Ausser dieser Art von Vermehrung besitzen Mucor Mucedo und die übrigen Spezies noch eine andere, geschlechtliche Vermehrung, welche mittels einer „Kopulation" zweier Äste desselben Myceliums vor sich geht. Zwei solche gegen einander wachsende kurze Zweige schwellen keulenförmig an und berühren sich mit ihren äussersten Enden (5). Die Zweige werden dann durch je eine Querwand in zwei Zellen geteilt, und die sich berührenden Endzellen verschmelzen durch Auflösung der sie trennenden, ursprünglich doppelten Wand. Diese zwei kopulierenden Zellen sind entweder einander gleich an Grösse, wie hier bei Mucor Mucedo, oder sie sind einander ziemlich konstant ungleich, wie bei Mucor stolonifer. Die so neugebildete Zelle — Zygospore (6) — nimmt schnell an Grösse zu und schwillt an zur Form einer Kugel (bei Mucor stolonifer einer Tonne), wonach die Wand verdickt und geschichtet wird: äusserlich ist sie dunkel

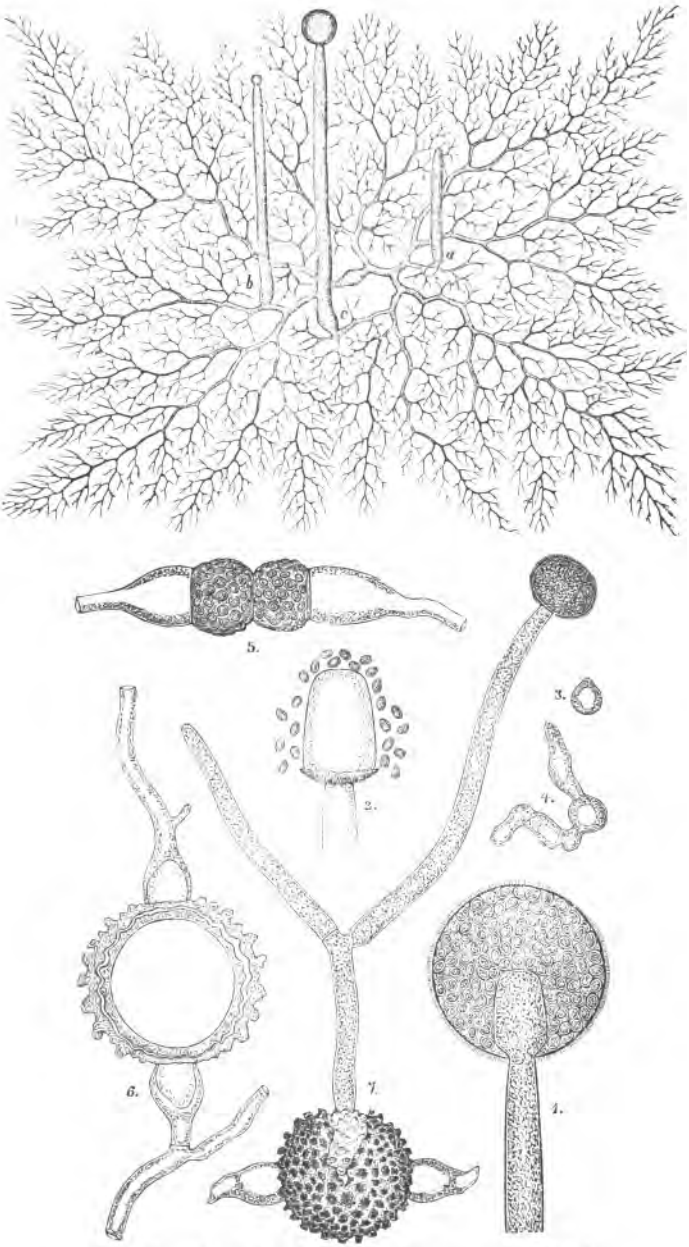

Fig. 17. Mucor Mucedo (nach Brefeld und Kny).

Beschreibung zu Fig. 17.

A baumartig verzweigtes Mycelium mit einzelnen dickeren aufrechten Ästen (*a*, *b*, *c*). 1 Sporangium, 2 Columella und Sporen, 3, 4 keimende Sporen, 5, 6 Entwickelung der Zygospore, 7 keimende Zygospore mit Sporangium.

gefärbt und mit warzigen Hervorragungen versehen. Diese äusseren Schichten sind sehr widerstandsfähig gegen Angriffe von Säuren. Die Zygosporen können meist erst nach längerer Ruhezeit keimen; der durch die äusseren Schichten getriebene Keimschlauch entwickelt sofort die beschriebenen Sporenfrüchte (7). — In der Zygospore treffen wir so ein Ruhestadium der Pflanze, ein Organ, welches durch seinen Bau den Pilz in den Stand setzt, das Leben in Perioden, welche für die Entwickelung ungünstig sind, zu bewahren.

Mucor racemosus hat einen verzweigten, mehrzelligen Sporangienträger, welcher ebenfalls eine bedeutende Höhe erreichen kann. An den Enden der Zweige entwickeln sich die graugelben Sporenfrüchte. Wenn man diesen Pilz auf Würze kultiviert, schwillt das untergetauchte Mycelium unregelmässig an, es treten sehr viele Scheidewände auf, welche grosse tonnenförmige oder unregelmässige mit stark lichtbrechendem Plasma gefüllte Zellen abgrenzen. Diese Zellen — Gemmen — werden leicht isoliert, nehmen dann — wie zuerst von BAIL beobachtet — Kugelform an (vergl. Fig. 18, 7) und vermehren sich hiernach durch Sprossung wie die eigentlichen Hefenpilze; dasselbe geschieht mit den untergetauchten Sporen (Mucorhefe, Kugelhefe). Ähnliche Gemmenbildungen können entstehen, wenn der Pilz auf festem Substrate kultiviert wird.

Mucor circinelloides (Fig. 18) hat ein recht charakteristisches Aussehen. Das Mycel (1) zeigt eine eigentümliche Verzweigung, welche bei einigen der Mucorarten auftritt: Die Hauptzweige senden kurze, wiederholt gabelig geteilte, wurzelähnliche Seitenzweige aus; vom Grunde dieser wachsen neue Mycelzweige aus, welche sich emporheben und Sporangien bilden können (2—5); der Sporangienträger ist verästelt. Während seiner Entwickelung gehen starke Krümmungen vor sich denen er den den Namen circinelloides verdankt. Sowohl bei dieser Form als bei Mucor spinosus — dessen chokoladenbraune Sporangien

sich dadurch auszeichnen, dass die Columella in ihrem obersten Teile mit spitzen, dornenähnlichen Auswüchsen besetzt ist —

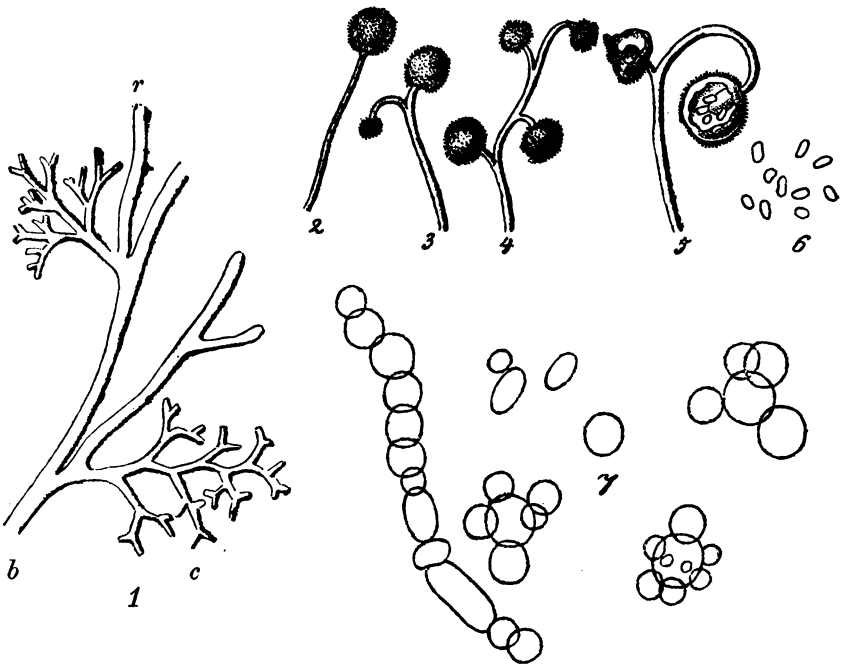

Fig. 18.

Mucor circinelloides (nach VAN TIEGHEM und GAYON).

1 Mycelium: *b* Hauptzweig, *c* wurzelartige Zweige, *r* axilläre Zweige; 2—4 Entwickelung von Sporangien; 5 geöffnete Sporangien; 6 Sporen; 7 untergetauchtes Mycelium und sprossende Zellen.

bringt das in einer zuckerhaltigen Flüssigkeit untergetauchte Mycelium die gleichen Gemmenbildungen hervor wie bei Mucor racemosus.

Mucor stolonifer (Rhizopus nigricans) erreicht eine recht ansehnliche Grösse und tritt sehr allgemein, z. B. auf saftigen Früchten, auf. Man erkennt diesen Pilz leicht daran, dass das braungelbe Mycelium dicke, querwandlose Schläuche schräg in die Luft emporsendet; diese nehmen eine Länge von ca. 1 *cm* an, senken darauf ihre Spitze zur Unterlage und senden feine, reich verzweigte Schläuche wie Wurzeläste ins Substrat hinein, während andere Schläuche sich senkrecht emporheben und

Sporangien entwickeln; wieder andere Äste bilden neue Ausläufer. Die schwarze Sporenfrucht besitzt ein hohes, kuppelförmiges „Säulchen“ und entwickelt eine Menge dunkelbrauner, runder oder eckiger Sporen. Wenn diese nach Auflösung der Fruchtwand frei geworden sind, wird die Columella wie ein Regenschirm auf den Fruchtträger umgestülpt, an dem die Ansatzlinie der Aussenwand in Form einer Ringleiste angedeutet bleibt.

Die Mucorarten haben von unserem Standpunkte aus gesehen ein ganz besonderes Interesse dadurch, dass die Arten in verschiedenem Grade als eigentliche Alkoholfermente auftreten können. Wie oben beschrieben, werden einige Mucorarten, in eine zuckerhaltige, vergärbare Flüssigkeit getaucht, das Aussehen schnell ändern; während der Pilz so in seinem Äussern an die hefenartigen Pilze erinnert, führt er gleichzeitig eine wirkliche Alkoholgärung aus, indem er als die wichtigsten Gärungsprodukte Alkohol und Kohlensäure hervorbringt. Werden dann die genannten freien Glieder des Pilzes mit den Kohlensäurebläschen zur Oberfläche der Flüssigkeit gehoben, können sie wieder die Schimmelform entwickeln. Diese Fähigkeit, eine Alkoholgärung hervorzubringen, besitzen die sämtlichen Spezies von Mucor, aber in verschiedenem Grade; doch ist die Fermentfähigkeit nicht an die genannten sprossenden Gemmenbildungen geknüpft, denn solche wurden bei Mucor Mucedo und stolonifer nicht beobachtet. Die kräftigste Fermentwirksamkeit besitzen Mucor racemosus, circinelloides (nach GAYON bis zu 5,5 Volumen-Prozent Alkohol) und spinosus; schwächer ist Mucor Mucedo und noch schwächer Mucor stolonifer. Nach HANSENs Untersuchungen zeigte sich, dass Mucor spinosus, welcher nach GAYON 1—2 Volumen-Prozent Alkohol entwickelt, in Wahrheit bei längerer Wirksamkeit bis zu 5,4 Volumen-Prozent hervorbringt.

GAYON beobachtete, dass das Mycel von Mucor circinelloides und spinosus, wenn man es in eine reine Saccharoselösung einführt, sich unwirksam verhält, während es z. B. in einer Glycoselösung schnell kräftige Gärungsphänomene zeigt. Ähnlich verhalten sich die meisten Mucorarten. Dagegen wird das untergetauchte Mycelium von Mucor racemosus auch in einer Rohrzuckerlösung eine Alkoholgärung einleiten können.

Dies rührt davon her, dass der letztgenannte Pilz ebenso wie die Bierhefe und verschiedene andere Pilze ein besonderes Ferment, das sogenannte Invertin, ausscheidet, welches den Rohrzucker umbildet (in Invertzucker verwandelt), bevor der Pilz die eigentliche Alkoholgärung einleitet. Wenn man diesen Stoff aus der allgemeinen Bierhefe auswäscht und eine geringe Menge zur Rohrzuckerlösung fügt, welche durch ihn umgebildet wird, können die übrigen genannten Mucorarten auch eine Alkoholgärung in der Flüssigkeit hervorbringen.

Da Mucor circinelloides dem Rohrzucker gegenüber sich unwirksam verhält, während er im Invertzucker eine sehr kräftige Fermentwirksamkeit ausübt, so zog GAYON hieraus den Schluss, dass dieser Pilz dazu mit Vorteil verwendet werden könnte, den Rohrzucker aus der Melasse in den Zuckerfabriken auszuziehen. Soweit ich in Erfahrung bringen konnte, wurde die Beobachtung bisher nicht praktisch verwendet.

6. Monilia. Unter diesem Namen findet man in den mycologischen Handbüchern eine Menge verschiedener Pilze verhältnismässig einfachen Baues beschrieben; von einem Mycelium, welches je nach der Art verschiedene Farbe besitzt, heben sich Äste empor, welche Reihen von eiförmigen oder elliptischen Sporen abschnüren. Das Genus erhielt in der neuesten Zeit Interesse dadurch, dass eine seiner Arten, welche HANSEN vorläufig Monilia candida nach BONORDENs Beschreibung genannt hat, ganz merkwürdige Eigenschaften in physiologischer Hinsicht zeigte. Sie tritt in der Natur als eine weisse Schicht auf frischem Kuhmiste und süssen saftigen Früchten auf. Führt man sie in Würze über, dann entwickelt sie eine reiche Vegetation hefenartiger Zellen, welche mit Saccharomyces ellipsoideus oder cerevisiae Ähnlichkeit haben. Gleichzeitig ruft sie eine kräftige Alkoholgärung hervor und bildet, während diese noch vor sich geht, eine mycodermaartige Haut auf der Flüssigkeit; die Zellen in dieser Haut strecken sich mehr und mehr und bilden endlich ein vollständiges Mycelium. In der ersten Periode bildete der Pilz, während Sacch. cerevisiae 6 Volumen-Prozent Alkohol gab, nur 1,1 pCt.; aber die Monilia setzte die Gärung fort, während die Kulturhefe bei dem genannten Quantum stehen blieb, und hatte im Laufe von 6 Monaten 5 Volumen-Prozent hervorgebracht.

Die weiteren Versuche mit diesem Pilze führten zu dem auffälligen Resultate, dass er das chemisch lösliche Ferment, Invertin; nicht auszuscheiden vermag, und dennoch den Rohrzucker als Rohrzucker vergärt. Wie bekannt, wurde der Rohrzucker bisher als nicht direkt vergärbar charakterisiert; HANSEN hat somit dargethan, dass dieser Lehrsatz keine allgemeine Giltigkeit besitzt; auch hat er gezeigt, dass die Saccharose direkt assimiliert wird.

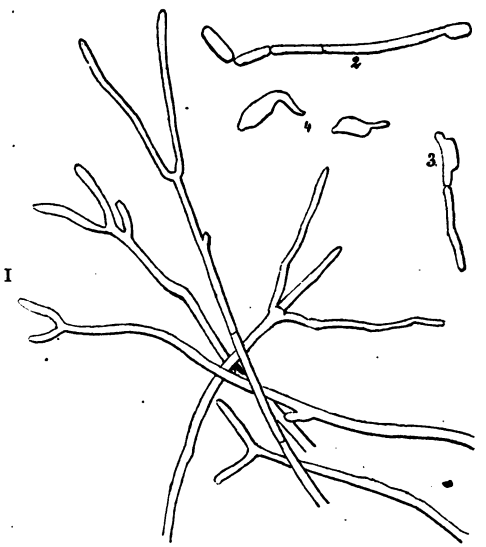

Fig. 19.
Oïdium lactis (nach HANSEN).

1 Hyphen mit Gabelteilung in der Spitze und beginnender Entwickelung von Seitenästen; 2—4 Konidien mit Keimfäden, in 2 hat der Keimfaden schon wieder Konidien abgeschnürt, 3 die Konidie hat hier einen kleineren und einen grösseren Keimfaden gebildet, von welchen der letztgenannte sich beim Bildungsorte geteilt hat; 4 zwei Konidien, wie Hefenzellen geformt, in beginnender Keimung.

7. Ein Schimmelpilz, welcher in der gärungsphysiologischen und medizinischen Litteratur eine grosse Rolle gespielt hat, ist Oïdium lactis (Fig. 19), der sogenannte Milchsäurehefenpilz, über welchem zahlreiche Abhandlungen erschienen sind.

Ein Teil dieser Mitteilungen sucht darzulegen, dass dieser Pilz ein Entwickelungsglied von Arten ist, welche andererorts in ganz anderen Formen und mit ganz anderen Eigenschaften auftreten. Er wurde so in genetischen Zusammenhang mit Bacterien, Chalara (s. u.), Saccharomyces u. s. w. gebracht. BREFELD sowohl als HANSEN haben zahlreiche Untersuchungen mit diesem Pilze angestellt und Kulturversuche unternommen, welche lange Zeit hindurch fortgeführt wurden, ohne irgend eine andere als die gewöhnliche Oïdiumform hervorzubringen.

FRESENIUS gab dem Pilze mit Recht den Zunamen lactis (der Milch), denn alle Erfahrungen gehen darauf hinaus, dass er auf der Milch seinen gewöhnlichen Aufenthaltsort hat, wo er in den allermeisten Fällen gefunden werden kann. Es wurde dagegen bisher gar kein Beweis dafür geführt, dass dieser Schimmelpilz im kausalen Verhältnisse zu den sauren Gärungen der Milch steht. Er tritt ferner spontan auf den verschiedensten anderen Flüssigkeiten auf, darunter auch auf den zuckerhaltigen Mischungen, welche in der Gärungsindustrie Verwendung finden.

Die oft gabelig verästelten, dünnwandigen, glasklaren Hyphen (1) bilden einen hohen, weissen Filz; im obersten Teile der Fäden entstehen dicht neben einander Querwände, wonach die einzelnen mit einem stark lichtbrechenden Plasma erfüllten Zellen sich als Konidien ablösen (2). Wenn der Pilz auf festem Substrate wächst, vereinigen sich die Hyphen und bilden eigentümliche kegelförmige Körper. In der Regel sind die Konidien im Längsschnitte rectangulär mit abgerundeten Ecken; man findet jedoch in einer Vegetation dieses Schimmelpilzes fast immer kugelige, ovale, birnenförmige und ganz unregelmässige Konidien (3, 4). Diese einzig bekannten Vermehrungsorgane senden einen oder mehrere Keimfäden aus. Der Pilz kann auf Bier, namentlich alkoholarmem, auftreten. So wie die Alkoholmenge zunimmt, werden die Chancen für seine Entwickelung ungünstiger; doch sind weder die Würze noch das Bier der Gefahr ausgesetzt, in höherem Grade vom Oïdium angegriffen zu werden, da er den Kampf mit den Konkurrenten, welche sofort auftreten, wenn vergärbare Flüssigkeiten den Keimen der Luft sich darbieten, nicht aufzunehmen vermag.

Bei zahlreichen Untersuchungen der Oberhefe, namentlich

wenn diese sich nach beendeter Gärung in ruhendem Zustande befindet, sah ich, dass dieser Pilz hier einen sehr günstigen Nährboden findet. Bisweilen zeigte die mikroskopische Untersuchung eine enorm grosse Menge seiner Konidien. Es ist nicht bekannt, welchen Einfluss eine solche Vegetation auf die Beschaffenheit der Hefe und des Bieres ausübt; zweifellos thut man gut daran, dem Pilze so weit wie möglich auszuweichen.

8. C. G. MATTHEWS beobachtete, dass die rote Farbe, welche auf Körnern des Malzes, namentlich wenn ihre Qualität weniger gut ist, auftritt, von einem Fusarium (am nächsten graminearum) herrührt. Er kultivierte diesen Schimmel auf verschiedenen Substraten. Die büschelförmig gestellten Sporen sind spindelförmig, gekrümmt, ein- oder mehrzellig; sie sind farblos oder nur sehr schwach tingiert, waren aber in den Präparaten in einer stark gefärbten Masse eingebettet. MATTHEWS studierte die Keimung der Sporen und giebt an, dass dieser Schimmel, auf Würze kultiviert, an den untergetauchten Teilen geschwollene und kugelige Zellen wie Mucor hervorbringt, welche eine Gärung bewerkstelligen können. — Die Schimmelbildung beginnt am keimenden Ende des Kornes und breitet sich von dort mehr oder weniger über die Oberfläche aus. Wenn solche Körner überhaupt keimen, zeigen sie eine abnorme Entwickelung, indem sie entweder nur einzelne krankhaft aussehende Wurzelfasern oder nur einen Blattkeim aussenden. Während Penicillium, Mucor, Aspergillus u. s. w. ihre Sporen leicht mit der Luft über den Malzhaufen ausbreiten, können, nach MATTHEWS, die vom Fusarium angegriffenen Körner nur die Nachbarkörner angreifen, wahrscheinlich weil diese Sporen ein grösseres Gewicht haben und dem erzeugenden Schimmelfaden fester adhärieren.

9. Chalara Mycoderma wird in PASTEURs Études sur la bière als einer der Bewohner der Weinbeeren hervorgehoben. Das Mycelium bildet auf Flüssigkeiten eine Kahmhaut und besteht aus verzweigten, ins graue fallenden Fäden, oft mit stark lichtbrechendem Plasma, welche an verschiedenen Punkten Konidien ungleicher Form und Grösse abschnüren. CIENKOWSKI hat in seiner Abhandlung über die Pilze der Kahmhaut Chalara zuerst ausführlich beschrieben. HANSEN fand, dass dieser Pilz auf gewöhnlicher Würze und Lagerbier nicht gedeiht; werden diese

Flüssigkeiten dagegen verdünnt, so entwickelt er sich leicht und bildet eine dicke, glänzende, klebrige und zähe Kahmhaut.

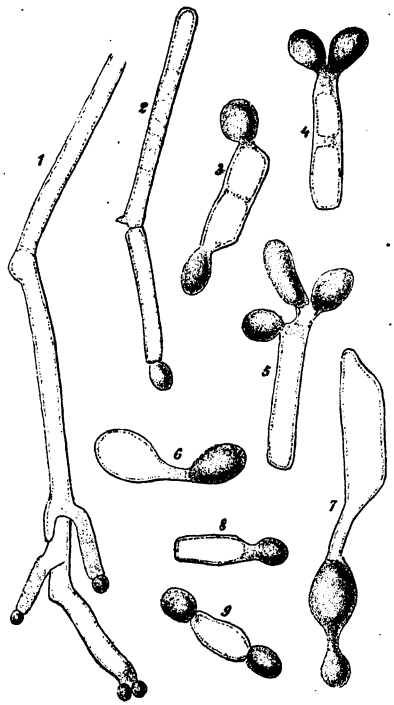

Fig. 20.

Chalara Mycoderma (nach HANSEN).

1 eine verzweigte Hyphe, dessen Endglieder Konidien abschnüren; 2 eine Hyphe, an dessen oberer Zelle ein Sterigma, welches Konidien abgeschnürt hat; 3—9 Hyphenglieder verschiedener Form, welche Konidien abschnüren.

10. Ein Schimmelpilz, über welchem sehr viel in unserer Litteratur geschrieben wurde, dessen praktische Bedeutung dagegen sicherlich in umgekehrtem Verhältnisse zu der ihm gewidmeten Aufmerksamkeit steht, ist Dematium pullulans (Fig. 21), welcher zuerst von DE BARY und später ausführlich von LOEW beschrieben wurde. Er tritt besonders auf Früchten, namentlich Weinbeeren, auf, hat ein verästeltes Mycelium, wovon Knospen abgeschnürt werden, welche mit gewöhnlichen Hefezellen eine auffallende Ähnlichkeit haben (4); diese können wieder in mehreren

Generationen sich durch hefeartige Sprossungen fortpflanzen oder Keimfäden bilden, welche ein Mycelium hervorbringen (3). Hat dieses ein gewisses Alter erreicht, dann bildet es zahlreiche, dicht neben einander gestellte Scheidewände, und wird nach und nach bräunlich oder olivengrün (5); hierin haben wir das Ruhestadium der Pflanze. — In HANSENs Luftana-

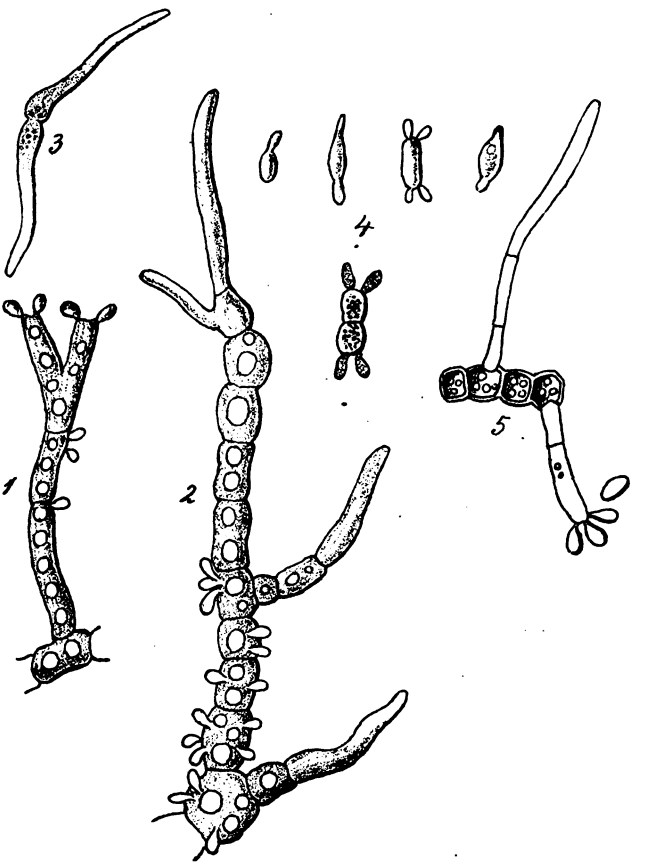

Fig. 21.

Dematium pullulans (nach LOEW).

1, 2 ausgewachsene Mycelfäden mit hefeähnlichen Zellen, 3 Zellen letztgenannter Art, zu Mycelfäden auswachsend, 4 Zellen mit hefeähnlichen Sprossungen, 5 Auftreten von hefeähnlichen Zellen an den Keimschläuchen der braunhäutigen Zellen.

lysen wurde Dematium sehr häufig auf Würze gefunden, welche der Luft ausgesetzt war, vom Frühjahre bis zum Spätherbste; er beobachtete, dass, wenn der Pilz auf zuckerhaltigen Flüssigkeiten ausgesät wird, er anfangs nur Mycelfäden entwickelt; nach einiger Zeit aber werden die hefeähnlichen Zellen abgeschnürt, ohne eine Alkoholgärung hervorzubringen. — PASTEUR hat in Études sur la bière diese Pflanze sehr ausführlich behandelt. Da sie in so reichlicher Menge an der Oberfläche der Weinbeeren auftritt, wo sich die Weinhefe entwickelt, und da diese oft ganz dasselbe Aussehen wie die von Dematium abgeschnürten hefeähnlichen Zellen hat, konnte man vermuten, dass ihre Konidien und die Weinhefezellen (Saccharomyces) identisch waren. PASTEUR spricht sich an verschiedenen Orten genannten Buches hierüber verschieden aus, indem er in gewissen Verbindungen dieses Zusammengehören nur als eine Vermutung, an anderen Orten dagegen als etwas Selbstverständliches aufstellt. Wir haben hier wieder ein Beispiel der früher genannten Bestrebungen die Hefenpilze (Saccharomyceten) auf die Schimmelpilze zurückzuführen. Nach den jetzigen Untersuchungsmethoden lässt die Frage keinen Zweifel mehr: Die eigentlichen Weinhefepilze können unter gewissen, später zu beschreibenden Umständen in ihrem Innern Sporen hervorbringen. Unter denselben Umständen entwickeln die Konidien von Dematium keine Sporen und sind dadurch von der Weinhefe verschieden.

11. Endlich nennen wir einen Pilz, welcher u. a. auch auf vergärbaren Flüssigkeiten und in Gärungsräumen auftreten kann: Cladosporium herbarum. Der Pilz tritt bisweilen in Gärungsräumen in sehr grosser Menge auf; ich traf vor einigen Jahren in einem Untergärungsraume die Decke und einen Teil der Wände mit kleinen schwarzen Flecken dicht besetzt; sie bestanden aus diesem Pilze, dessen Konidien ich daher immer in der Hefe traf. Die Pflanze besteht aus einem gelbbraunen Mycelium mit kurzen, geraden, steifen und spröden Fäden, von welchen die emporwachsenden in ihrer obersten Partie Konidien von den verschiedensten Formen — kugelige, ovale, cylindrische, gerade oder gekrümmte — hervorbringen können. Die systematische Stellung des Pilzes und seine mögliche genetische Verbindung mit anderen bekannten Pilzen ist eben so wenig klargelegt,

wie sein Einfluss auf die Nährflüssigkeit. ERIKSSON giebt an, dass der Roggen bisweilen von Cladosporium befallen wird, und dass der Pilz, in solchem Brode oder in Bier genossen, Krankheiten beim Menschen hervorbringen kann.

Über diese oder wenigstens nahe verwandte Formen gab ZOPF eingehende morphologische Untersuchungen mit zahlreichen Abbildungen in seiner Abhandlung über Fumago. Diese letztgenannten „russthauartigen" Pilze treten auf Pflanzenteilen sehr allgemein auf. Mit Recht sagt FRANK: Hinsichtlich der specifischen Unterscheidung sind wir noch ganz im Unklaren, woran namentlich der reiche Polymorphismus derselben und der Umstand, dass die einzelnen Entwickelungsformen fast nie beisammen gefunden werden, Schuld sind.

---

5. Kapitel.

Die Alkoholgärungspilze.

Einleitung.

Es liegt nicht innerhalb des Rahmens einer kurzgefassten Darstellung wie diese, eine detaillierte historische Übersicht des Wissens vergangener Zeiten zu geben. Nur so viel soll hervorgehoben werden, als gerade für das Verständnis der gegenwärtigen Sachlage notwendig ist. Wie die Arbeiten des letzten Decenniums wesentlich aus mehr oder weniger direkt von der Praxis gegebenen Veranlassungen hervorgingen, fordern auch die gewonnenen Resultate mit voller Berechtigung dazu auf, dass sie in die Praxis verpflanzt und daselbst verwertet werden. Dies kann aber selbstverständlich nur geschehen, wenn das rechte Verständnis für das Wesentliche in den wissenschaftlichen Arbeiten vorhanden ist. Der Zweck der hier folgenden Darstellung ist, ein solches Verständnis zu erleichtern.

Das Wort Alkoholgärungspilze, allgemein benutzt, ist sehr umfassend. Sowohl Schimmelpilze, wie Bacterien und Spross-

pilze können eine Alkoholgärung ausführen. Im folgenden werden wir uns nur mit den letztgenannten beschäftigen: Unter den Sprosspilzen können einige zugleich mit einem Mycelium auftreten, während eine solche Entwickelungsform bei andern nicht bekannt ist; innerhalb dieser letztgenannten Sprosspilze ohne Mycel wurde wieder eine Gruppe auf Grund ihrer Fähigkeit, endogene Sporen bilden zu können, unter dem Namen Saccharomyceten ausgeschieden.

Im Jahre 1870 publizierte REESS seine „Botanischen Untersuchungen über die Alkoholgärungspilze". Es wurde hier zum ersten Male nachgewiesen, was oben angedeutet ist, dass sich unter den Sprosspilzen eine Gruppe von Pflanzen findet, welche dadurch charakterisiert sind, dass sie endogene Sporenbildung besitzen und kein Mycelium entwickeln, während dagegen ihre Alkoholgärungswirksamkeit von untergeordneter Bedeutung bleibt. Wir erhalten somit hier eine scharfe und deutliche Sonderung zwischen den Saccharomyceten und allen übrigen Sprosspilzen. REESS bildete ferner ein System der Saccharomyceten, indem er sich auf die Grösse und Form der Zellen allein stützte; diese auf rein mikroskopischen Merkmalen basierte Aufstellung von Arten zeigte sich leider als verfehlt; wir lernen aus diesem Werke nicht, die Arten zu sondern. Eine eigentlich praktische Bedeutung hat folglich die REESSsche Arbeit nicht gewonnen, ja es wurde sogar mehrere Jahre darüber gestritten, ob die Sporen bei der praktisch verwendeten Hefe auftreten oder nicht; es wurde endlich, z. B. von BREFELD, als ein Dogma festgestellt, dass der Kulturhefe, welche zur Sprossbildung unaufhörlich gezwungen war, diese Fähigkeit abging. In diese Verwirrung wurde zuerst durch HANSENs Untersuchungen Klarheit gebracht.

PASTEURs „Études sur la bière" erschienen im Jahre 1876. Durch dieses Werk wurde die Kenntnis der Gärungswirksamkeit nach mehreren Seiten wesentlich gefördert. Es wird hier klar und unwidersprechlich dargethan, welche Macht die mikroskopischen Lebewesen besitzen, und es wird stark betont, dass namentlich die Bakterien einen durchgreifenden Einfluss auf den Verlauf der Gärung und auf den Charakter der Flüssigkeit ausüben können. Die Sprosspilze werden ebenfalls ausführlich ab-

gehandelt, und für einzelne nicht genauer definierte Pilze dieser Gruppe wird, wie es auch schon früher von BAIL und von einigen Zymotechnikern geschah, angedeutet, dass sie auf die Beschaffenheit des Gärungsproduktes in verschiedener Weise einwirken können. Was PASTEUR hier mitteilt, sind nur Andeutungen nach zwei einander widerstreitenden Richtungen hin. Dies tritt namentlich in seinen Beobachtungen über die sogenannte Käse-Hefe und aërobiotische Hefe hervor: Möglicherweise ist hier die Rede von selbständigen, eigentümlichen Hefenarten, möglicherweise aber auch nur von durch eine gewisse Behandlung der gewöhnlichen Brauereihefe umgebildeten Formen. Es darf aber nicht vergessen werden, dass er über seinen Standpunkt klar ist und selbst betont, worin man die Ursache suchen muss, dass die Frage nicht entschieden werden konnte, nämlich darin, dass es damals nicht möglich war zu entscheiden, ob man von Anfang an mit einer oder mit mehreren Spezies arbeitete; die Methode der Reinkultur der Hefenarten war zu dieser Zeit, kurz gesagt, noch nicht aufgefunden. Eine wirkliche Orientierung in dieser Welt der Mikroorganismen findet man folglich in dem gelehrten Werke nicht; es ist an keinem Punkte der PASTEURschen Darstellung möglich solche Charaktere für die Sprosspilze zu finden, dass darauf eine Analyse basiert werden kann. Für PASTEUR sind auch alle Sprosspilze mit einigermassen ausgeprägter Fähigkeit zur Alkoholgärung dasselbe wie Saccharomyceten; es ist an keinem Orte klar, ob von echten Saccharomyceten oder von anderen Sprosspilzen die Rede ist. Diese Hefenpilze, welche in unserem jetzigen Systeme zu sehr verschiedenen Abteilungen gehören können, werden ferner als Entwickelungsstufen von Dematium ähnlichen Schimmelpilzen aufgestellt, ohne dass hierfür die Beweise gegeben werden. Ob es verschiedene Arten dieser Sprosspilze (Saccharomyceten, Torula, Dematium u. s. w.) giebt oder nicht, wird von PASTEUR nicht entschieden. Seine Behandlung der von uns erwähnten botanischen Probleme muss überhaupt in den wesentlichen Punkten als eine verfehlte bezeichnet werden.

Wie aber PASTEURs Werk immer, wegen der Kraft, mit der der Einfluss von Bacterien in der Gärungsindustrie geltend gemacht wird, seine Bedeutung für die Praxis behält, so bietet es auch ein grosses theoretisches Interesse dar, besonders durch die

darin aufgestellte neue Gärungstheorie, welche seiner Zeit mit Recht Aufsehen erregte.

Gegenüber BREFELD, welcher behauptete, dass die Hefe sich nicht ohne freien Sauerstoff vermehren könnte, und TRAUBE, welcher wohl einräumte, dass die Hefe sich ohne freien Sauerstoff zu entwickeln vermag, aber aufrecht hielt, dass sie dann die in der Flüssigkeit gelösten Eiweissstoffe zu ihrer Zellbildung verbraucht, spricht PASTEUR den Satz aus, dass die Gärungsorganismen eine Gruppe von Lebewesen bilden, deren Funktion als Fermente gerade „eine notwendige Folge des Lebens ohne Luft, des Lebens ohne freien Sauerstoff" ist, und dass ferner eine solche Gärung auch in reinen Zuckerlösungen vor sich gehen kann. Er hält aufrecht, dass die Ursache, weshalb BREFELD die Hefe in feuchter Kammer in einer Atmosphäre von Kohlensäure nicht zur Entwickelung bringen konnte, darin lag, dass er mit alten Hefezellen operierte, während die Vermehrung der Hefe ohne freien Sauerstoff nur dann möglich ist, wenn die Zellen sehr jung sind. Die geringe Menge freien Sauerstoffes, die sich in den Flüssigkeiten, denen die Hefe zugesetzt wird, befindet, „verjüngt die Zellen und macht es ihnen möglich, die Fähigkeit zur Sprossung wieder aufzunehmen, das Leben zu bewahren und ihre Vermehrung ohne Zutritt der Luft fortzusetzen".

PASTEUR macht daher eine bestimmte Sonderung zwischen zwei Arten von Organismen: aërobiotischen, welche ohne Zutritt der freien Luft nicht leben können, und anaërobiotischen, welche eine Zeit lang die Luft vollständig entbehren können; diese letzteren sind „Fermente im eigentlichen Sinne des Wortes".

Es wäre unrichtig anzunehmen, dass die Gegenwart von Alkohol und Kohlensäure in den Produkten einer Gärung absolut „Alkoholfermentorganismen im eigentlichen Sinne" voraussetzen müsse. Es zeigte sich nämlich in den von LECHARTIER und BELLAMY zuerst gemachten und später von PASTEUR erweiterten Versuchen, dass, wenn Weinbeeren, Orangen und andere Früchte, an welchen keine Hefezellen sich befanden, in abgesperrten mit Kohlensäure gefüllten Räumen, aufbewahrt wurden, eine Entwickelung von Kohlensäure und Alkohol stattfand. „Der Fermentcharakter ist daher nicht eine Existenzbedingung der Hefe; die fermentative Fähigkeit ist nicht Zellen spezieller Natur

eigentümlich, ist keine permanente Struktureigentümlichkeit, sie ist eine Eigenschaft, die von äusseren Umständen und von einem Ernährungsmodus des Organismus abhängt".

„Die Gärung ist somit ein sehr allgemeines Phänomen. Sie ist das Leben ohne Luft, das Leben ohne freien Sauerstoff oder, noch allgemeiner, sie ist die notwendige Folge einer mit Hilfe eines gärungsfähigen Stoffes ausgeführten chemischen Arbeit, welcher dazu fähig ist, durch seine Auflösung Wärme hervorzubringen, eine Arbeit, welche genau die Wärmemenge, die sie verbraucht, von einem Teile der Wärme entlehnt, welche durch die Auflösung der gärungsfähigen Substanz frei gemacht wird. Die Klasse von Gärungen im eigentlichen Sinne wird durch die geringe Zahl von Stoffen begrenzt, die sich unter Produktion von Wärme zu lösen vermögen, und die als Nahrung für niedere Organismen ohne Zutritt der Luft dienen können." Dies ist in kurzen Zügen die berühmte Gärungstheorie PASTEURs.

Hieran schliessen sich die von PASTEUR und seinen Nachfolgern angestellten zahlreichen Lüftungsversuche, welche in der zymotechnischen Litteratur vielfach besprochen wurden.

Aus NÄGELIs mannigfaltigen Arbeiten über die niederen Organismen werden wir, an das Vorhergehende anknüpfend, nur die von ihm aufgestellte „molekular-physikalische" Gärungstheorie, welche wesentlich als eine Modifikation der LIEBIGschen auftritt, erwähnen. Während PASTEUR die Gärung als das Resultat einer in der Zelle vor sich gehenden Wirksamkeit erklärt, definiert NÄGELI die Gärung als eine Übertragung von Bewegungszuständen der Moleküle, Atomgruppen und Atome verschiedener, das lebende Plasma zusammensetzender Verbindungen (welche dabei selbst keine Veränderung erleiden) auf das Gärmaterial, wodurch das Gleichgewicht in dessen Molekülen gestört wird und dieselben zum Zerfallen gebracht werden. Bei der Gärung werden so die Schwingungen der Plasmamoleküle auf das Gärmaterial übertragen. Die Gärungsursache befindet sich im lebenden Plasma, also im Innern derZelle, wirkt aber ziemlich weit über die Zelle hinaus. Die Zersetzung des Zuckers — namentlich in Alkohol und Kohlensäure — erfolgt zum geringeren Teile innerhalb der Hefenzellen, zum grösseren Teile

ausserhalb derselben. Diese Theorie steht so im Gegensatze zu der PASTEURschen.

In BREFELDs zahlreichen mykologischen Abhandlungen nehmen die Sprosspilze einen hervorragenden Platz ein; so zeigte dieser Naturforscher, dass viele Ustilagineen in ein solches Sprosspilzstadium eintreten können. Es wurde jedoch nicht nachgewiesen, ob diese Formen die für die Saccharomyceten charakteristische endogene Sporenbildung haben, auch nicht, ob sie eine ausgeprägte Fermentwirksamkeit entfalten können.

In der Reihe der verschiedenen Gärungstheorieen wird der Kernpunkt aller hierhergehörigen Fragen gar nicht berührt: Woher kommt es, dass in diesen mikroskopischen Zellen das Plasma, welches bei den verschiedenen Arten dasselbe Aussehen hat, doch in der einen Zelle eine Essigsäuregärung, in der andern eine Buttersäuregärung hervorruft, in dieser Zelle den Rohrzucker direkt zu vergären vermag, in jener dagegen erst nach einer vorhergehenden Umbildung? Die Ursache dieser verschiedenartigen Wirksamkeit des Plasmas ist noch ein ungelöstes Rätsel.

Unsere Kenntnisse von den Alkoholhefepilzen waren somit, als HANSEN seine Untersuchungen aufnahm, sehr lückenhaft und unsicher; diese Untersuchungen mussten auf experimentellem Wege von Grund aus angegriffen werden. Dies hat HANSEN in seinen beinahe zehn Jahre hindurch fortgesetzten Arbeiten ausgeführt, und das grösste Interesse knüpft sich an die Frage: Durch welche Methoden gelang es ihm, diese Aufklärungen über die Saccharomyceten zu schaffen, welche schon jetzt — und nicht nur vom wissenschaftlichen Standpunkte aus — eine tiefere Einsicht gestattet haben, die uns aber auch so weit führten, dass dadurch eine die Hefenfrage betreffende Reform in der Industrie durchgeführt wurde? Diese Frage wollen wir deshalb zunächst erörtern.

Hansen's Untersuchungen.

Als HANSEN im Jahre 1878 seine Schrift über „Organismen in Bier und Bierwürze" ausarbeitete, hob er die Unsicherheit hervor, welche in den Arbeiten früherer Verfasser über die eigentlichen Saccharomyceten herrschte; er betonte, dass es nicht möglich war, auf dem von den Vorgängern betretenen Wege weiter zu kommen, dass vielmehr die Untersuchungen, wenn sie weiter führen sollten, was PASTEUR und REESS begonnen, von ganz anderen Gesichtspunkten aus angegriffen werden müssen. Erst im letzten Teile des Jahres 1881 gelang es ihm, den Schlüssel zur Lösung des Problems zu finden. Die Aufgabe war: die Methode in der Weise auszubilden, dass man Vegetationen erhalten konnte, deren jede von einer Zelle abstammte, um daraus zu schliessen, ob diese so garantierten Reinkulturen konstante Charaktere darböten — also inwiefern die Saccharomyceten als Art, Varietät oder Rasse auftreten — und im bestätigenden Falle, welches diese konstanten Charaktere wären. Wenn dieses Problem gelöst war, musste die folgende praktische Aufgabe die sein, zum ersten Male eine Methode zur Analyse der Hefe zu entwickeln.

Wie durch Impulse aus der Praxis selbst diese rein wissenschaftlichen Arbeiten hervorgingen, musste dann die Arbeit mit diesen Aufgaben wieder zur Praxis zurückkehren.

1. Darstellung der Reinkultur.

Schon an einem früheren Orte in dieser Darstellung wurde hervorgehoben, wie man von verschiedenen Seiten den Gedanken aussprach, dass die Bedingung für unsere Kenntnisse der mikroskopischen Organismen, von welchen wir in jedem Tropfen unter dem Mikroskope Hunderte oder Tausende finden, lediglich diese ist, dass man das Individuum ausscheidet und mit einer von ihm stammenden reinen Vegetation arbeitet. Gleichzeitig wurden in aller Kürze die verschiedenen Wege, welche man eingeschlagen hatte, angedeutet.

HANSEN hat in seinen Schriften wiederholt hervorgehoben,

dass die einzige in allen Fällen sichere Methode die ist, den Ausgangspunkt von dem Individuum zu nehmen und den Anfang von diesem aus zu konstatieren. Zuerst wurde die von NÄGELI, FITZ und anderen benutzte Verdünnungsmethode (s. S. 18) zu diesem speziellen Zwecke weiter ausgearbeitet. Die von HANSEN aufgestellte Methode ist in kurzem folgende: In einem der PASTEURschen Kolben wird eine kräftige Alkoholgärung hervorgerufen; die entwickelte Hefe wird dann in einem willkürlich gewählten Verhältnisse mit sterilisiertem Wasser verdünnt, und man zählt die Anzahl von Zellen in einem kleinen Tropfen der stark geschüttelten Flüssigkeit. Die Zählung wird in diesem Falle ganz einfach in der Weise ausgeführt, dass der herausgegriffene Tropfen auf ein gewöhnliches mikroskopisches Deckgläschen übergeführt wird; mitten auf diesem Deckgläschen sind einige kleine Quadrate eingeritzt, welche Anhaltspunkte für das Auge bieten können; der Tropfen darf nicht über die Grenzen der Quadrate hinausfliessen; man zählt darauf die in dem kleinen Tropfen befindlichen Zellen. Es finden sich z. B. 10 Zellen, und man führt nun einen Tropfen ähnlicher Grösse von der wieder stark geschüttelten Flüssigkeit in einen Kolben mit einem bekannten Volumen z. B. 20 *ccm* sterilisierten Wassers hinein. Es spricht dann eine gewisse Wahrscheinlichkeit dafür, dass dieses Kölbchen ca. 10 Zellen enthält. Wird nun dessen Inhalt stark und lange geschüttelt und danach schnell 1 *ccm* der Flüssigkeit in je einen von 20 Kolben mit Nährflüssigkeit eingeführt, dann hat wahrscheinlich die Hälfte dieser 20 Kolben je eine Zelle empfangen. Das Ganze ist aber bisher nur eine Wahrscheinlichkeitsrechnung. Lässt man die Kolben zur weiteren Entwickelung stehen, dann hat man Aussicht, in einzelnen derselben eine Reinkultur zu erhalten. Hierauf kann jedoch nicht mit Sicherheit weiter gebaut werden. Es gelang nun HANSEN, ein Glied hinzuzufügen, welches diesem Experimente erst Sicherheit giebt. Schüttelt man nämlich die eben infizierten Kolben sehr stark und stellt sie danach ruhig hin, so sinken die einzelnen Zellen zu Boden und lagern sich an der Wand des Kolbens. Es ist einleuchtend, dass, wenn der Kolben z. B. 3 Zellen enthält, diese 3 Zellen nach dem starken Umschütteln immer oder wenigstens in den allermeisten Fällen von einander entfernt und folglich jede für sich am Boden abgelagert wurde. Nach einigen Tagen gewahrt man dann,

wenn man den Kolben vorsichtig emporhebt, dass sich ein oder mehrere weisse Flecke auf der Wand des Glases gebildet haben. Findet sich nur ein solcher Fleck, dann haben wir die Reinkultur.

Mit Hilfe der eingeholten Kenntnis der Arten wurde es möglich, diese Methode einer eingehenden Prüfung zu unterwerfen, und es zeigte sich, dass HANSEN richtig gesehen hatte.

Ist die Aufgabe die, aus einer gemischten Vegetation verschiedener Arten solche zu isolieren, die im geschwächten Zustande sich befinden, dann muss man, wie HANSEN bemerkt, diese Methode benutzen, indem hier immer mit Flüssigkeiten, d. h. unter den für den betreffenden Organismus günstigsten Ernährungsbedingungen, gearbeitet wird.

Liegt dagegen der andere Fall vor, dass man aus einer gemischten Vegetation die Art auszuscheiden wünscht, welche in kräftiger Entwickelung zugegen ist und deren Gedeihen folglich nicht von besonders günstigen Ernährungsbedingungen abhängt, so kann man schneller und mit geringerem Aufwand zum Ziel gelangen durch die Anwendung eines festen Nährsubstrates, hier Gelatine und Würze. Es ist dargethan, dass ein Zusatz von Gelatine zu einer Flüssigkeit ihren Wert als Nährmaterial für die Bakterien und Hefepilze herabsetzt; dieser Nachteil wird jedoch im gegebenen Falle durch die obengenannte Bedingung, dass die Vegetation, aus welcher die Reinkultur dargestellt werden soll, jung und kräftig ist, von geringerer Bedeutung. Ein Vorteil dieser Methode, wie HANSEN sie für das Studium der Alkoholgärungspilze ausarbeitete, ist, dass es hier möglich wird, das Individuum direkt unter dem Mikroskope zu beobachten und seiner weiteren Entwickelung zu folgen, indem die Gelatineplatte sich in der feuchten Kammer befindet. Ich verweise auf die frühere Darstellung (S. 20), welche im Zusammenhange mit den übrigen, von anderen Forschern benutzten Methoden gegeben wurde.

2. Die Analyse.

Durch die ganze Reihe der Arbeiten HANSENs geht ein bestimmter Gedanke, nämlich der, dass die Form, das Grössenverhältnis und das Aussehen der Zelle an und für sich

nicht hinreichen, um Artencharaktere geben zu können, indem dieselbe Art bei verschiedener äusserer Einwirkung in ganz verschiedener Weise, mit ganz verschiedenem Gepräge auftreten kann[1]), die Form und die Entwickelungsphasen der Zelle aber, von einer anderen Seite gesehen, sehr wichtige Unterscheidungsmerkmale für die Arten geben. Es zeigt sich nämlich, dass es Grenzen der Einwirkung giebt, welche auf die Zellen ausgeübt wird, dass die verschiedenen Arten auf dasselbe Eingreifen in verschiedener Weise reagieren; dies kann nur so erklärt werden, dass sich hierbei innere, den speziellen Zellen selbst innewohnende Charaktere geltend machen.

Wir geben im Folgenden eine kurze Darstellung der verschiedenen Wege, auf welchen Charaktere der Arten von HANSEN bestimmt wurden.

a) Das mikroskopische Bild der Bodensatzhefe.

Die erste Untersuchung einer Hefenvegetation geht selbstverständlich immer in der Weise vor sich, dass man zur vorläufigen Orientierung eine Probe der Hefe direkt unter das Mikroskop bringt. Als Beispiele dafür, was auf diesem Wege erreicht werden kann, verweise ich auf die folgenden Figuren (23, 26 u. s. w.), welche die Bodensatzhefeformen[2]) der sechs von HANSEN speziell behandelten Arten von Saccharomyceten darstellen. Die Vegetationen wurden dadurch hervorgebracht, dass die Zellen, welche einige Zeit in Würze kultiviert waren, danach mit

---

1) Als prägnantes Beispiel in dieser Richtung giebt HANSEN an, dass eine Sacch. cerevisiae (Unterhefe), wenn sie nach längerer penibler Entwickelung danach in Würze bei ca. 27° C. propagiert wird, die Zellen das allgemein bekannte Aussehen erhalten, während sie, bei $7^1/_2$° C. kultiviert, zusammengewickelte Kolonieen mit myceliumartigen Verzweigungen geben.

2) Ausser dem gewöhnlichen teigartigen Bodensatze fand HANSEN auch bisweilen eine hautartig gefaltete Schicht am Boden der infizierten Flaschen. So entwickelte die Sacch. Past. II. einen hautartigen Bodensatz bei Temperaturen unterhalb 7° C., Sacch. Past. III. unterhalb 22° C. und namentlich in ausgeprägter Weise zwischen 14 und 1° C. Dieser hautartige Bodensatz bestand wesentlich aus kräftig entwickelten mycelartigen Kolonien und hatte überhaupt ein anderes Gepräge als die gewöhnliche Kultur.

Wenn Kulturen von Saccharomyceten, die mehrere Monate in Saccha-

neuer Würze versehen zu einer kräftigen Entwickelung bei 26 bis 27° C. in 24 Stunden gebracht wurden. Vergleicht man nun z. B. die Figuren von Saccharomyces cerevisiae I mit den drei Pastorianus-Arten, so zeigt das Totalbild einen auffallenden Unterschied: Die Sacch. cerevisiae besteht vorzugsweise aus grossen, runden oder ovalen Zellen, die Pastorianus-Arten besitzen meistens gestreckte, wurstförmige Zellen; ganz anders stellt sich jedoch die Sache, wenn man Zellen der ersten Art mit Zellen einer der anderen genannten Arten vermischt; es ist dann, wenn man nur auf die Formen Rücksicht nimmt, nicht möglich, die grösseren und kleineren ovalen und runden Zellen der Pastorianus-Art von vielen der Sacch. cerevisiae-Zellen zu unterscheiden. Die zwei Arten Sacch. ellipsoideus I und II besitzen (Fig. 32 und 34) überwiegend ovale und runde Zellen; wurstförmige Zellen kommen jedoch auch vor, und hier wird es folglich ebenfalls nicht möglich sein, durch die Formen eine Bestimmung der Arten zu erreichen, wenn sie mit Sacch. cerevisiae oder Sacch. Pastorianus vermischt sind.

Durch direkte Messungen dieser Bodensatzformen wurden keine Anhaltspunkte gefunden. Der grösste Diameter von Sacch. cerevisiae I. war 11—5, meistens 8—6 Mikromillimeter (Tausendstel Millimeter = μ); die drei Pastorianus-Arten hatten eine grösste Dimension von 17—$2\frac{1}{2}$ μ, häufig 8—7 μ; die Sacch. ellips. I: 13—$2\frac{1}{2}$, häufig 7—6 μ, die Sacch. ellips. II.: 11—3, häufig 8—7 μ.

Dagegen wird eine Übersicht über die sechs Figurengruppen

---

rose entwickelt waren, in Würze übergeführt wurden, so beobachtete derselbe Forscher oft einen ähnlichen Bodensatz, wenn die Kultur bei 25—28° C. für die drei Pastorianus-Arten unternommen wurde, dagegen niemals unter diesen Verhältnissen bei den drei anderen Arten. Gleichzeitig mit dem hautartigen Bodensatze traten käseartige Klümpchen auf; auch war ein Bodensatz, ausschliesslich aus solchen gebildet, häufig. In beiden Fällen war dieser Bodensatz ganz locker, und bei starkem Schütteln hielt sich die Flüssigkeit glänzend durchsichtig, auch während der kräftigsten Gärung. Nach fortgesetzten neuen Gärungen mit Würze verschwindet das Phänomen, und wir haben somit hier wieder ein Beispiel von einer vorläufigen physiologischen Umbildung, indem man bei bestimmter Behandlung der Vegetation verschiedener Arten die käseartige Hefe (PASTEURS lévure caséeuse) hervorrufen kann.

von Reinkulturen sofort ergeben, dass man hier 3 verschiedene Abteilungen von Sprosspilzen vor sich hat, deren eine von Sacch. cerevisiae repräsentiert wird, während die zweite die drei Pastorianus-Arten die dritte die zwei ellipsoiden Arten umfasst. — So viel, aber auch nur so viel ermöglicht die rein mikroskopische Beobachtung, und, das muss hervorgehoben werden, nur unter den angegebenen Kulturbedingungen.

b) Die Askosporenbildung.

Durch HANSENs Untersuchung der in den echten Saccharomyceten vor sich gehenden endogenen Sporenbildung wurde das erste Glied einer wirklichen analytischen Methode auf diesem Felde geschaffen. Wir geben eine kurze Darstellung des experimentellen Vorganges und der gewonnenen Resultate im allgemeinen.

Die Sporenbildung in den Hefezellen wurde von verschiedenen Forschern untersucht – DE SEYNES, REESS, ENGEL, SCHUMACHER, MÜNZ, BREFELD, VAN TIEGHEM, WIESNER. Ausser der Beobachtung und Darstellung der Sporenbildung findet man bei den genannten Autoren eine nicht geringe Menge darauf basierter Bemerkungen als Beiträge zur Biologie und Physiologie der Saccharomyceten. In allem Wesentlichen zeigten sich jedoch diese Angaben einer eingehenden Prüfung gegenüber nicht stichhaltig. Wie schon bemerkt, suchte REESS ein System der Saccharomyceten nach der Form und Grösse der Zellen und Sporen aufzubauen; er gab ferner an, dass eine solche Sporenbildung überhaupt auftreten würde, wenn die Hefe eine Zeit lang in den Brauereien lag, ohne von den Schimmelpilzen angegriffen zu werden; ferner, dass die Entwickelung der Sporen durch niedrige Temperaturen begünstigt würde, und dass die obergärige Hefe nur durch eine Umbildung in Unterhefe Sporen bilden könnte. VAN TIEGHEM meinte durch seine Untersuchungen gefunden zu haben, dass die Sporen Krankheitsbildungen wären, welche einträten, wenn die Zellen von Bacterien angegriffen würden — dies war, wie die oben genannten Behauptungen von REESS, nicht richtig.

WIESNER gab an, dass die Askosporenentwickelung als ein Mittel zum Nachweise der Verfälschungen von Presshefe praktisch

verwendet werden könnte. Die Zellen dieser letztgenannten Hefe sollten nicht Sporen bilden können, wogegen die zur Verfälschung benutzte Bierhefe diese Fähigkeit besässe. Wenn man also in der Presshefe bei der Kultur askosporenbildende Zellen fände, dann wäre sie verfälscht. Das wirkliche Verhalten ist jedoch dieses, dass sowohl die Presshefe wie die Bierhefe die genannte Fähigkeit besitzt. BREFELD endlich gab an, dass nur die „Naturhefe" Sporen zu entwickeln vermöchte, während die „Kulturhefe" wegen der speziellen Kulturverhältnisse in der Industrie diese Eigenschaft verloren hätte. Auch dies war, wie früher bemerkt, nicht mit den thatsächlichen Verhältnissen übereinstimmend.

Es bleibt von dem Obengenannten und allem, was sonst behauptet wurde nur ein Faktum: Die Saccharomyces-Zelle kann unter gewissen Umständen in ihrem Innern Sporen bilden.

Um diese Organe hervorzubringen, entwickelt HANSEN die Hefe, wie auf Seite 82—83 angegeben. Eine geringe Menge dieser Hefe wird auf vorher sterilisierte Gipsblöckchen übergeführt; diese Blöckchen befinden sich in flachen, bedeckten Gläsern und werden dadurch feucht gehalten, dass die Gläser zur Hälfte mit Wasser gefüllt sind [1]). Gilt es nun bloss im allgemeinen die genannte Bildung hervorzurufen, dann kann man die Apparate bei gewöhnlicher Zimmertemperatur hinstellen.

Die Sporen treten dann nach dem Verlaufe einiger Zeit als kugelige oder zum Teil abgerundete Körper in den Zellen auf (Fig. 22). Oft zeigt sich dann in solchen Kulturen die sogenannte „Scheidewandbildung". Diese rührt von einer Anschwellung der Sporen her, indem die Membran der Mutterzelle sich so dicht und stark um die Sporen spannt dass es nur mittels Chemikalien oder durch eine Sprengung der Zelle möglich wird, die Wand dieser letztern deutlich zu erkennen; gleichzeitig üben die geschwollenen Sporen einen Druck gegen einander aus, und ihre Wände treten an den Berührungsflächen in genaue gegenseitige Verbindung; bisweilen werden dann die Reste des Plasmas

1) Die Askosporen können auch dadurch hervorgebracht werden, dass die Hefe auf sterilisierter, erstarrter Gelatine in einem feuchten Raume angebracht wird; ebenso auch in Hefenwasser und sterilisiertem Wasser.

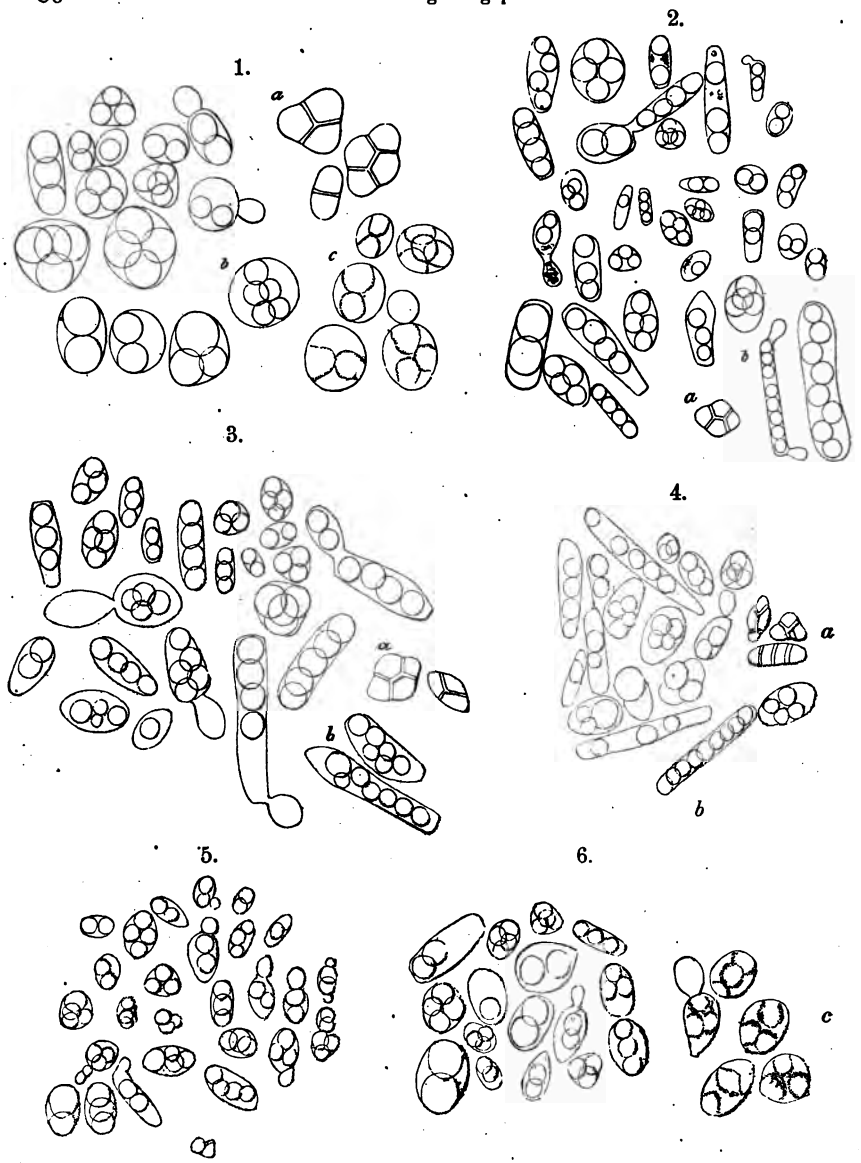

Fig. 22. Askosporenbildende Saccharomyceten.

1. Sacch. cerevisiae I, 2. Sacch. Pastorianus I, 3. Sacch. Past. II, 4. Sacch. Past. III, 5 Sacch. ellipsoideus I, 6 Sacch. ellips. II. *a* Zellen mit Scheidewandbildungen, *b* Zellen mit grösserer Zahl von Sporen als normal, *c* Zellen mit deutlichen Anlagen zu Sporen. (Nach HANSEN.)

der Mutterzelle als Keile oder Wände zwischen die Sporen gepresst; dann bilden entweder die Sporenwände allein oder die genannten Plasmawände oder beide zugleich die „Scheidewände". Gewöhnlich kann man mittelst eines Druckes auf das Deckgläschen die Sporen lostrennen; es giebt aber Fälle, wo dies nicht möglich ist, indem die Zellen so fest mit einander verbunden sind, dass sie bei einer gewaltsamen Einwirkung zerquetscht werden, und in diesen Fällen ist auch bei kräftigen Vergrösserungen eine Sonderung zwischen den Wänden nicht erkennbar; hier liegt dann eine wirkliche Verwachsung vor, die Zelle ist ein mehrkammeriger Körper geworden.

Die Keimung der Sporen geht in der Weise vor sich, dass sie stark anschwellen und wie die vegetativen Zellen eine Knospe entwickeln.

Bei den Versuchen HANSENs kam es darauf an, darüber Klarheit zu schaffen, welchen Einfluss die verschiedenen Temperaturen auf die Bildung der Sporen ausübten und danach zu bestimmen, ob die Arten sich gleich verhielten oder ob es möglich wäre, verschiedene Charaktere zu erhalten. Es mussten alsdann festgestellt werden: 1. die Grenztemperaturen, d. h. die höchste und niedrigste Temperatur, bei welcher die Sporen gebildet werden konnten; 2. die Optimumstemperatur, d. h. die Temperatur, bei welcher die Sporen am schnellsten auftraten; und endlich 3. die Verhältnisse der zwischenliegenden Temperaturen.

Zur Bestimmung der gesuchten Zeitpunkte wird der Augenblick benutzt, wo die Zellen deutliche Anlagen zu Sporen gebildet haben. Diese Anlagen (cfr. Fig. 22, 1. 6.) zeigen sich als Körper mit unregelmässigen Konturen, von den plasmatischen Teilen des Zellinhaltes gebildet. Es ist nicht möglich, zu den genannten Bestimmungen die reife Spore zu benutzen, da ein Criterium für die vollständige Reife nicht vorliegt.

Die Resultate HANSENs sind folgende:

Die Bildung der Sporen geht bei niedrigen Temperaturen langsam vor sich, schneller aber, wenn die Temperatur steigt, bis zu einem gewissen Punkte; passiert man diesen Punkt, dann wird die Entwicklung wieder verzögert, bis sie endlich inne hält.

Als niedrigste Temperaturgrenze wurde für die sechs zuerst

behandelten Arten ½—3° C. gefunden, als höchste 37½° C. Für diese sechs Arten, bei denen HANSEN die zwischenliegenden Temperatur- und Zeitproportionen bestimmte, zeigte sich, wenn diese zwei Grössen graphisch dargestellt wurden, indem die Wärmegrade als Abscissen und die Zeiträume als Ordinaten aufgetragen wurden, dass hierdurch krumme Linien entstanden, welche für alle sechs Arten im Wesentlichen dieselbe Form hatten. Sie steigen von der Ordinate des niedrigsten Wärmegrades gegen die Abscissenachse herab und entfernen sich danach von dieser; gleichzeitig ergeben aber diese Kurven, dass die von der höchsten und niedrigsten Temperatur bestimmten Kardinalpunkte charakteristische Merkmale für die Arten geben, d. h. also, dass die Temperaturgrenzen, innerhalb welcher die Sporenbildung bei den einzelnen Arten vor sich gehen können, verschieden sind (cfr. S. 101 f.).

Was die Zeit betrifft, welche zur Bildung der Sporenanlagen bei den untersuchten sechs Arten unter denselben Temperatur-Verhältnissen vergeht, wurde folgendes beobachtet. Bei der höchsten Temperatur fordert die Entwickelung ca. 30 Stunden bei allen Arten; auch bei 25° C. war kein wesentlicher Zeitunterschied vorhanden; geht man aber mehr abwärts, dann treten augenfällige Differenzen ein. So bildet z. B. die Sacch. cerevisiae I bei 11½° C. ihre Sporenanlagen erst nach 10 Tagen, die Sacch. Pastorianus II nach 77 Stunden u. s. w.

Bei allen Bestimmungen dieser Art übt der Zustand der Zellen einen sehr grossen Einfluss aus, je nachdem sie bei hohen oder niedrigen Temperaturen entwickelt wurden, alt oder jung, gehemmt oder kräftig entwickelt waren u. s. w. Daraus folgt, dass auch die Zusammensetzung der Nährflüssigkeit einen Einfluss ausübt. Bei methodischen, vergleichenden Untersuchungen dieser Art ist es daher eine notwendige Bedingung, dass die Zellen vorher immer in derselben Weise kultiviert werden. Variiert man diese äusseren Bedingungen, so muss man gleichzeitig die Grenzen für die Reaktionen der Arten demgegenüber bestimmen.

Nachdem HANSEN diese Beobachtungen gemacht hatte, wurde

die Methode sogleich zur praktischen Analyse der Brauereihefe benutzt. Die in der Brauerei Alt-Carlsberg verwendete reinkultivierte Hefe (No. I.) bildet nämlich bei 25° C. ihre Sporen viel später als alle bisher untersuchten Krankheitserreger unter den Saccharomyceten. Hierdurch war folglich zum ersten Male eine wirkliche Analyse auf diesem Gebiete durchgeführt.

HOLM und POULSEN gelangten durch Versuche, zu dem Zwecke angestellt, zu bestimmen, wie weit HANSENs analytische Methode in der für die Praxis angestellten Analyse reicht, zu dem Resultate, dass man auf diesem Wege eine sehr geringe Einmischung wilder Hefe, etwa $^1/_{200}$ der ganzen Hefemasse, (Carlsberger Unterhefe No. I) mit Sicherheit nachweisen kann. Es wurde in früheren Versuchen von HANSEN dargethan, dass, wenn z. B. die zwei Arten Sacch. Pastorianus III und Sacch. ellipsoideus II, welche in dem Biere Hefentrübung hervorrufen können, nur in einem Verhältnisse von $^1/_{41}$ der Anstellhefe zugegen sind, die Krankheit sich nicht entwickeln wird, vorausgesetzt, dass Gärung und Lagerung in regelrechter Weise stattfanden; folglich wird eine Analyse der Hefe mittels der Askosporenbildung nach HANSENs Methode mehr als genügende Aufklärung geben können.

Daneben bietet diese Methode auch den Vorteil, dass die Analyse hierdurch in kurzer Zeit durchgeführt werden kann. So wird man im obengenannten Falle durch eine Kultur bei ca. 25° C. nach 40 Stunden immer eine deutliche Antwort erhalten.

Wie oben angegeben, stellen sich die Kulturrassen verschieden, und hiernach ist die Versuchsanordnung zu bestimmen. Die von HANSEN rein kultivierte untergärige Hefe No. I. (Alt-Carlsberg) wird, wie gesagt, am besten bei circa 25° C. untersucht. Eine Gypskultur von einigen der anderen Rassen bei derselben Temperatur angestellt, wird dagegen nur sehr schwer über die Beimischung wilder HefenAufschlüsse geben können, weil bei dieser Temperatur diese Rassen ihre Sporen nur sehr kurze Zeit nach den wilden Hefen entwickeln. Stellt man dagegen eine solche Kultur bei ca. 16° C. — oder bei gewöhnlicher Zimmertemperatur — an, so sieht man,

dass die Kulturhefe ihre Sporen später ausbildet als die wilden Hefezellen.

So weit die Untersuchungen bisher gehen, gruppieren sich die in den Untergärungsbrauereien benutzten Kulturrassen um die zwei genannten Typen, indem sie der einen oder der anderen näher angehören.

c) Die Hautbildung.

Durch die Beobachtung der Hautbildungen der Saccharomyceten hat HANSEN auf einem ganz anderen Wege als im vorigen Falle Charaktere für die Arten gefunden. Es wird hierdurch eine neue Bahn für das Studium dieser Pilze geöffnet, da die bisher von verschiedenen Verfassern in dieser Richtung gegebenen Andeutungen von dem wirklichen Verhalten abweichen.

Es ist ein allgemein bekanntes Phänomen, dass gegorene Flüssigkeiten mit Häuten bedeckt werden, und dies wurde hier zum ersten Male einer durchgeführten Untersuchung unterworfen. Wie bekannt, haben namentlich die von Sprosspilzen gebildeten Häute — Saccharomyces Mycoderma, Mycoderma cerevisiae, Mycod. vini — die Aufmerksamkeit auf sich gezogen, und die häufige Erwähnung solcher Häute in der Litteratur führte dieselbe Folge mit sich, die auch von anderen Sphären wohl bekannt ist: man hat so lange hierüber geredet als über etwas Bekanntes, bis man zuletzt glaubte, es wirklich zu kennen. Es zeigt sich nun, dass man sich in einem Irrtume befand.

HANSEN hat in seinen letzten Arbeiten eine grosse Anzahl von Häuten behandelt, und darunter mehrere von solchen Formen die verschiedenen Arten von „Saccharomyces Mycoderma“ — welche keine endogene Sporenbildung besitzen — am nächsten kommen. Nach DE SEYNES, REESS und CIENKOWSKI sollen diese Sacch. Mycoderma-Arten Askosporen bilden; es ist jedoch sehr wahrscheinlich, dass diese Forscher unreine, mit echten Saccharomyceten untermischte Häute vor sich gehabt haben. Es ist nach HANSEN mit nicht geringer Schwierigkeit verbunden, die Reinheit einer solchen Kultur zu beurteilen, wenn man nicht mit einer Zelle beginnt; denn wenn die Sacch. Mycoderma als Bodensatzhefe kultiviert wurde, nahmen die Zellen ein ganz anderes Aussehen an; sie wurden stärker mit Plasma gefüllt, wäh-

rend die Zellen der Häute, wie bekannt, plasmaarm sind, mit stark entwickelten Vakuolen. Solche Formen, welche gewöhnlich zu Saccharomyces Mycoderma zugerechnet werden, bilden leicht und schnell Häute, ohne vorhergehende deutliche Gärung. Diese Häute sind auf Bier und Würze grauartig, trocken, werden später gefaltet und lichter von Farbe; zwischen den Zellen findet sich reichlich Luft eingemischt. Aehnliche Häute bilden die von HANSEN bearbeiteten Torulaformen; dagegen ist die Haut von Chalara Mycoderma klebrig, zähe und schwach glänzend; bei Monilia, die, wie früher erwähnt, mit sprossenden Zellen auftreten kann und die Saccharose direkt vergärt, ist die Hautbildung eigentümlich: schon während der kräftigen Gärung wird eine Haut auf den Schaumblasen gebildet, die sich nach und nach über die ganze Oberfläche ausbreitet und bisweilen Falten erhält. Die Zellen in dem Kolben sinken also zuerst als Bodensatzhefe herab, rufen eine heftige Gärung hervor und steigen mit den Kohlensäurebläschen wieder zur Oberfläche hinauf, wo sie in ein neues Entwicklungsstadium eintreten. Wird sterilisiertes Lagerbier mit diesem Pilze infiziert, so zeigt sich keine Gärung und es tritt nur eine dünne, staubähnliche Haut auf; unter anderen Verhältnissen bildete der Pilz eine weissmehlige wollartige Schicht wie bei Oidium.

Bei den eigentlichen Saccharomyceten treten ebenfalls Häute auf, von den obengenannten aber etwas verschieden, und das Gleiche gilt einigen der PASTEURschen Torula und „Saccharomyces apiculatus." Nach dieser Beobachtung ist die Hautbildung nicht als etwas für gewisse Arten Eigentümliches, sondern als ein bei den Mikroorganismen allgemein vorkommendes Phänomen aufzufassen.

Bei den Saccharomyces-Arten tritt dieses Verhalten in seiner Allgemeinheit in der Weise hervor, dass, wenn man Kulturen in Würze kürzere oder längere Zeit bei gewöhnlicher Zimmertemperatur ungestört stehen lässt, sich bei der Beendigung der Hauptgärung nach und nach kleine Hefenflecken an der Oberfläche der Flüssigkeit zeigen; diese können später zu Figuren verschiedener Form und Grösse zusammenfliessen, zu Inseln, deren aufwärts gekehrter Teil flach, deren herabgetauchter Teil gewölbt ist.

Zuletzt schmelzen sie zu einer zusammenhängenden, in der Regel hell graugelben, schleimigen Haut zusammen, welche an der Wand des Glases als ein ganzer Ring fortgesetzt werden kann. Eine solche vollständige Hautbildung tritt zuerst auf, wenn die Hauptgärung beendigt ist. Schüttelt man den Kolben, dann werden einzelne Fetzen der Haut losgerissen und sinken zu Boden, und es kann sich in dieser Weise nach und nach eine ganze Schicht am Boden anhäufen, während die Haut sich immer erneuert und ein marmoriertes Aussehen erhält, da die jüngeren Partieen dünn und dunkel, die älteren dagegen dick und hell sind.

Die Bedingung dafür, dass die Haut gebildet werden kann, ist eine freie, ruhige Oberfläche mit direktem Zutritte zur atmosphärischen Luft, und eine kräftige Hautbildung setzt eine reichliche Luftzufuhr voraus. Die Bedeutung dieser letzteren Bedingung für die Hautbildung bei den Saccharomyceten wurde durch das folgende Experiment dargethan. Zwei Reihen von PASTEURschen Kolben mit Würze von derselben Art und demselben Volumen wurden mit derselben Saccharomycesart infiziert und der Hautbildung überlassen. Die eine Reihe der Kolben war so angebracht, dass die gebogene Röhre in Wasser hinuntertauchte; die entwickelte Kohlensäure hob sich dann in Blasen durch das Wasser; die zweite Reihe wurde wie gewöhnlich hingestellt. Das Resultat war, dass sich wohl in beiden Fällen eine Haut bildete, aber unter sonst ganz gleichen Verhältnissen langsamer und schwächer in der ersten Versuchsreihe als in der zweiten. Hieraus folgt, dass in den CHAMBERLANDschen Kolben oder in gewöhnlichen Kochflaschen, mit Filtrierpapier überbunden, eine weit schnellere und kräftigere Entwickelung als in den PASTEURschen Kolben mit ihrer begrenzten Luftzufuhr stattfindet.

Gleichzeitig mit der Hautbildung tritt immer eine Entfärbung der Würze ein, bis diese lichtgelb wird. Die Reaktion tritt am schnellsten bei höheren Temperaturen ein und tritt am augenfälligsten hervor bei den Arten, welche die kräftigste Hautbildung hervorbringen.

Die vorläufige Kultur der Zellen ist dieselbe wie die früher (S. 82—83) beschriebene. Von der gebildeten Vegetation wird die Flüssigkeit entfernt und neue sterile Würze hinzugefügt. Aus

der geschüttelten Mischung von Hefe und Würze führt man einen Tropfen in Kochflaschen hinein, welche ca. 150 *ccm* fassen, zur Hälfte mit Würze gefüllt und mit Filtrierpapier überbunden sind. Dieser Prozess wird mit solcher Vorsicht unternommen, dass jede Infektion von aussen ausgeschlossen bleibt. HANSEN brachte dann die Kochflaschen bei verschiedenen Temperaturen an, und es wurde bestimmt:

1. Die Temperaturgrenze für die Bildung der Häute,
2. der etwaige Zeitpunkt für ihr Auftreten bei verschiedenen Temperaturen, und
3. das mikroskopische Aussehen der Vegetation bei den verschiedenen Temperaturen.

Der Schwerpunkt in HANSENs Untersuchungen der früher genannten sechs Arten liegt in dem mikroskopischen Aussehen der Häute dieser Arten bei gleichen Temperaturen, und wir erhalten hier wieder, von einem anderen Gesichtspunkte als im vorigen Abschnitte aus gesehen, eine durchgeführte Untersuchung über die Relation zwischen den eingreifenden Faktoren und den Formen, welche darthut, dass wir eben so vielen in ihrem innersten Wesen verschiedenen Typen oder Arten gegenüberstehen.

Die Untersuchung der Haut geschah, wo nichts anderes bemerkt ist, wenn sie so weit entwickelt war, dass sie gerade mit dem blossen Auge gesehen werden konnte.

Ein Vergleich der einzelnen Befunde führt zu den folgenden Schlusssätzen:

Während es als allgemeine Regel hingestellt werden kann, dass die Zellen der alten Häute sehr auffälligen Formveränderungen unterworfen sind, zeigt es sich, dass die Zellen der Häute von Sacch. cerevisiae I., Sacch. Past. II. und Sacch. ellips. II. im jungen Zustande keine mycelartigen Kolonieen bilden; solche können dagegen sofort bei Sacch. Past. I. und III. und Sacch. ellips. I. auftreten. Hierin finden wir schon eine Verschiedenheit in der Natur dieser Arten.

Bei höheren Temperaturen geben die sechs Arten nur sehr wenige Anhaltspunkte für die Untersuchung, indem hier nur Sacch. cerevis. I. und Sacch. ellips. II. sich von den übrigen unterscheiden. Ganz anders stellt sich jedoch die Sache, wenn man die jungen Häute bei 13—15° C. untersucht. Die zwei

Arten Sacch. Past. II. und Sacch. Past. III., welche beide Obergärungshefen sind, und deren Zellen in der gewöhnlichen Aussaat nicht sicher von einander gesondert werden können, treten hier mit ganz verschiedenen Vegetationen auf, und einen ebenso auffallenden Unterschied findet man zwischen den sonst einander ähnlichen Arten Sacch. ellips. I. und II. Soll man daher in dieser Gruppe von sechs Arten bei der genannten Temperatur die Spezies unterscheiden, so ist es nur für Sacch. Past. I. und II. mit Schwierigkeit verbunden. Hier wird alsdann die Askosporenbildung Winke geben können, sowie der Umstand, dass die Gärung in den Kolben die eine als obergärige, die andere als untergärige Hefe charakterisiert.

Eine Beobachtung der Temperaturgrenzen für die Bildung der Häute ergiebt, dass sie bei Sacch. cerevis. I. und ellips. I. bei ca. 38° und 5—6° C. innehält; für die drei PastorianusArten liegen die Grenzen bei 34° und 3° C.; Sacch. ellips. II. hat dieselbe niedere Grenze wie die letztgenannten, ihre Maximaltemperatur liegt dagegen bei 38—40° C.

Die Zeitgrenzen mit den früher für die Askosporenbildung gegebenen verglichen, zeigen, dass in beiden Fällen die Entwickelung bei niedrigen Temperaturen langsamer vor sich geht als bei höheren; bei Wärmegraden, welche nahe der Minimums- und Maximumstemperatur liegen, war die Hautbildung immer sehr schwach und unvollständig.

Bei Temperaturen oberhalb 13° C. hatte die Haut der Sacch. ellips. II. eine so schnelle und kräftige Entwickelung, dass man lediglich hierdurch die Flaschen mit dieser Hefe erkennen konnte. So gab sie bei 22—23° C. eine vollständig deckende Haut nach 6—12 Tagen, während die fünf anderen Arten erst nach der dreifachen Zeit eine Haut, welche meistens schwächer entwickelt war, gaben. So gab auch diese Art und Sacch. Past. III. bei Zimmertemperatur verhältnismässig schnell eine kräftige Haut, während die anderen Arten zur selben Zeit noch weit zurück waren.

Wie oben erwähnt, haben die Hautbildungen eine verschiedene Maximaltemperatur. Dies steht damit im Zusammenhang, dass die Maximaltemperatur der Arten für die Sprossung nicht dieselbe ist. Es wurde hier nachgewiesen, dass Sprossung und Gärung noch über die Temperatur hinaus statt-

finden, bei welcher die Entwickelung einer Haut nicht mehr eintritt. So beobachtete HANSEN noch bei 38—40° C. eine lebhafte Gärung und Sprossung bei Sacch. cerevisiae I., Sacch. ellipsoideus I. und Sacch. ellipsoideus II., bei 34° C. bei den 3 Arten der Gruppe Sacch. Pastorianus. Aber auch hier zeigten sich neue Anhaltspunkte zur Speziesunterscheidung, denn während die drei Pastorianus-Arten unter diesen Kulturverhältnissen nach höchstens 11 Tagen bei 36—38° C. abgestorben waren, lebten die drei anderen Arten nach derselben Zeit bei 38° C. Hieraus ergiebt sich auch, dass die früher aufgestellte Regel: die obergärigen Hefen können sich bei höheren Temperaturen als die untergärigen entwickeln, nicht richtig ist, und dass es ein Verhältnis zwischen dem Einflusse der Temperatur auf die Sprossung und Gärung einerseits und auf die Hautbildung andererseits giebt.

d) Das Verhalten der Saccharomyceten gegenüber den Zuckerarten.

Wie früher angegeben, verhalten sich die Schimmelformen den Zuckerarten gegenüber verschieden. Die Moniliaform vergärt die Saccharose direkt; innerhalb der Mucorarten macht sich der Unterschied geltend, dass Mucor racemosus die Saccharose erst invertiert und danach vergärt, während die übrigen beschriebenen Arten zuerst nach einer in anderer Weise hergestellten Umbildung dieses Zuckers ihre Fermentwirksamkeit ausüben können u. s. w.

Ähnliche spezielle Eigentümlichkeiten machen sich innerhalb der Saccharomyceten geltend, wozu wir hier, der Übersicht halber, die sogenannte Sacch. apiculatus und die PASTEURschen Torulaformen knüpfen.

Unter den eigentlichen Saccharomyceten verhalten sich vorläufig die vielen mit dem Kollektivnamen Sacch. cerevisiae benannten gleich, indem sie alle Invertin ausscheiden können, wonach sie den Invertzucker vergären. Von diesen unterscheidet sich Sacch. exiguus, eine von HANSEN behandelte wilde Art, welche wohl der von REESS unter diesem Namen beschriebenen sehr nahe kommt, dadurch, dass sie die Maltose nicht zu vergären vermag. Das Gleiche gilt vom „Sacch.

apiculatus", welcher aber auch die Saccharose nicht vergären kann.

Auffallende Unterschiede zeigen sich auch zwischen den von HANSEN behandelten Torulaformen, unter welchen einige (cfr. S. 115) Invertin ausscheiden, andere nicht, wieder andere wohl eine schwache Alkoholgärung in Würze hervorbringen, sich dagegen in Saccharose unwirksam verhalten. So hat auch ROUX eine PASTEURsche Torulaform behandelt, die wohl in einer Dextroselösung Alkoholgärung einleitete, aber nicht in Saccharose.

Diese Resultate, welche die Grundlage für weitere Untersuchungen bilden, zeigen unzweifelhaft, dass die Saccharomyceten sowie die Alkoholgärungspilze überhaupt auch in ihrer chemisch-physiologischen Wirksamkeit Speziescharaktere besitzen, welche wieder nur durch Reinkulturen gefunden werden können.

e) Unterscheidung der Arten nach ihren von der Praxis beurteilten Eigenschaften.

Da Reinkulturen derselben Arten nach HANSENs Anleitung in der grossen Praxis schon an den verschiedensten Orten geprüft wurden, ist nicht länger zweifelhaft, dass die verschiedenen Eigenschaften bei der Anstellhefe betreffend Bruch, Klärungsdauer, Attenuation, Haltbarkeit gegen Hefentrübung u. s. w. in sehr wesentlichem Grade auf die Art oder Rasse selbst zurückgeführt werden müssen, und so einen Teil der ihnen innewohnenden Charaktere ausmachen, welche festgestellt werden können, wenn eine Norm zur Beurteilung vorliegt.

Aber auch innerhalb der sogenannten „wilden" Arten von Saccharomyceten wies HANSEN durchgreifende Eigentümlichkeiten in dieser Richtung nach, indem er Gruppen entdeckte, welche im Biere Krankheiten hervorrufen, während andere in den grossen praktischen Versuchen sich unschädlich zeigten. Unter den erstgenannten besitzen einige die Eigentümlichkeit, dem Biere einen bitteren Geschmack zu verleihen, andere rufen Hefentrübung hervor —, also wieder Charaktere, welche an die Spezies geknüpft sind und diese vor anderen kenntlich macht. Hierüber genaueres im folgenden.

Ehe wir unsere übersichtliche Darstellung von HANSENs Untersuchungen abschliessen, wird es hier am Platze sein, seine Studien über gelatinöse Bildungen bei Hefezellen zu erwähnen.

Unter gewissen noch nicht genauer bekannten Umständen können die durch Sprossung der Hefezellen hervorgebrachten Kolonieen sich zu unregelmässigen Klümpchen vereinigen, welche schneller als die einzelnen Hefezellen zu Boden sinken. Dies steht unzweifelhaft in Verbindung mit einer Seite der Entwickelung der Hefezelle, welche HANSEN in 1884 entdeckte. Er fand, dass sowohl die Saccharomyceten wie andere Sprosspilze ein gelatinöses Netzwerk ausscheiden können, welches aus Strängen oder Platten besteht, und worin die Zellen eingebettet liegen. Bringt man z. B. etwas dickflüssige Brauereihefe in ein Glas und stellt sie zugedeckt hin, so dass sie langsam eintrocknet, dann wird eine Spur dieser Hefe, in einem Tropfen Wasser verteilt, dieses Netzwerk deutlich zeigen. Die Bildung tritt gleichfalls auf in den Gips- und Gelatinekulturen. Ich selbst habe diese merkwürdige Bildung, nachdem HANSEN mich auf ihre Natur aufmerksam gemacht hatte, sehr häufig in den Hefenproben beobachtet, welche in Filtrierpapier in Briefkouvert meinem Laboratorium geschickt wurden [1]). Sie wurde von HANSEN auch in der Hautbildung der allermeisten Arten gefunden. Eine allgemeine mikroskopische Untersuchung der Anstellhefe in der Brauerei zeigte diese Bildung nicht; mit Hilfe von Färbungen trat sie jedoch deutlich hervor. Wenn die Hefe wiederholt ausgewaschen wurde, so gelang es auch nicht durch Färbungen, das Netzwerk hervorzurufen; entfernte man aber das Wasser und liess die Zellmasse einige Zeit hindurch stehen, so konnte eine entsprechende Präparation die gelatinösen Massen wieder deutlich machen. Durch Variieren der Ernährungsverhältnisse der Zellen konnte die Entwickelung gefördert oder gehemmt, die chemische Zusammensetzung geändert werden. Das ganze Verhältnis erinnert an die Zoogloeenbildung bei den Bacterien.

1) Diese Methode, eine Hefenprobe für längere Zeit aufzubewahren, ist sehr bequem. Man zieht ein Stückchen Filtrierpapier einige Male schnell durch die Flamme, giesst darauf ein paar Tropfen Hefe und faltet es zusammen, wonach es in mehrere ähnlich behandelte Schichten eingelegt wird.

Als Einleitung zur systematischen Beschreibung der einzelnen Saccharomycesarten geben wir nachstehend eine allgemeine Beschreibung der Saccharomyces-Zelle.

Das mikroskopische Bild einer Hefezelle, wie sie sich am häufigsten in einer gärenden Flüssigkeit zeigt, ist eine kugelförmige oder ovale Figur, welche durch Ausstülpung ihrer Wand eine oder mehrere Knospen hervorbringt, die sich früher oder später von der Mutterzelle lostrennen können. Diese Zelle ist folglich von einer Membran umgeben, welche in den verschiedenen Entwickelungsstadien der Zelle sich etwas verschieden ausbilden kann, doch selten in augenfälliger Weise. Anders verhält sich dagegen der Inhalt dieser Zelle. Das einfachste Bild dieses Inhalts erhalten wir, wenn wir die Zelle in ihrer kräftigsten Vermehrungswirksamkeit betrachten: Der Inhalt besteht dann aus klarem und homogenem Plasma. Mit der fortschreitenden Vermehrungs- und Gärungswirksamkeit treten in diesem Plasma verschiedene Körper auf; teils klare Partieen, welche safterfüllt sind (Vacuolen), teils grössere und kleinere Körner, von welchen einige als Fettkörner bestimmt werden können, während andere eine dem Plasma ähnliche Beschaffenheit zeigen. Diese körnige Beschaffenheit des Plasmas nimmt nach und nach zu, und in einem weit vorgeschrittenen Gärungsstadium, wenn die Zelle in einen beinahe ruhenden Zustand übergegangen ist, kann das Plasma zu einem feinen Belege an der inneren Seite der Wand reduziert sein, während der übrige Raum von einer grossen Vacuole erfüllt wird, die zahlreiche kleine und grosse Körner enthält, unter welchen sehr viele fettartig sind. Bringt man solche Zellen wieder in eine gärungsfähige Flüssigkeit, dann zeigen sie nach kurzer Zeit ein höchst charakteristisches Bild in der Periode, welche den makroskopisch erkennbaren Gärungsphänomenen vorhergeht. Die Körner verschwinden, und in dem klaren Zellsaft treten zahlreiche feine Plasmafäden auf, die nach und nach abgerundete Vacuolen umgrenzen; endlich verschwinden diese, und die Zelle ist wieder mit einem klaren, homogenen Plasma gefüllt.

Wie in den meisten übrigen Pflanzenzellen findet sich auch in der Hefezelle ein Zellkern (von SCHMITZ zuerst nach-

gewiesen), welcher durch eine Färbung mit Osmiumsäure oder Pikrinsäure — Hämatoxylin nachgewiesen werden kann. Nach HANSEN ist dieser Zellkern entweder kugel- oder scheibenförmig: er fand in den alten Hautbildungen von Saccharomyceten Zellen, welche ohne alle Präparation den Zellkern deutlich zeigten. Von den endogenen Sporen sowie von den gelatinösen Bildungen wurde bereits früher gesprochen.

Systematik der Gattung Saccharomyces.

Sprosspilze ohne Mycelbildung, deren einzelne Arten mit Zellen verschiedener Form und Grösse auftreten. Bei gewisser Behandlung, auch zuweilen ohne vorhergehende Präparation, treten Zellkerne auf. Unter bestimmten Verhältnissen entwickeln die Zellen **endogene Sporen**; die keimenden Sporen wachsen zu sprossenden Zellen aus. Anzahl der Sporen 1—10, am häufigsten 1—4. Die Zellen scheiden, unter geeigneten Verhältnissen, ein gelatinöses Netzwerk aus, worin Zellkomplexe eingebettet sind.

Die sämtlichen Arten rufen eine Alkoholgärung hervor.

Saccharomyces cerevisiae I. Hansen.

(Fig. 23—25.)

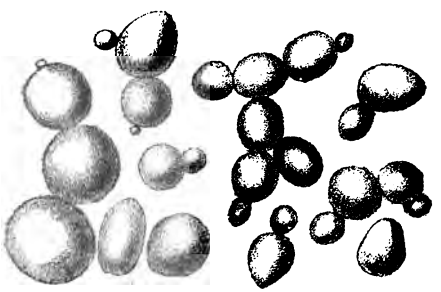

Fig. 23.
Bodensatzformen.
(Nach HANSEN.)

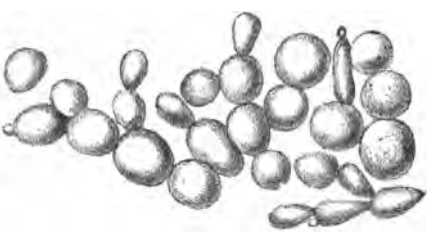

Fig. 24.
Hautformen bei 15—6° C.
(Nach HANSEN.)

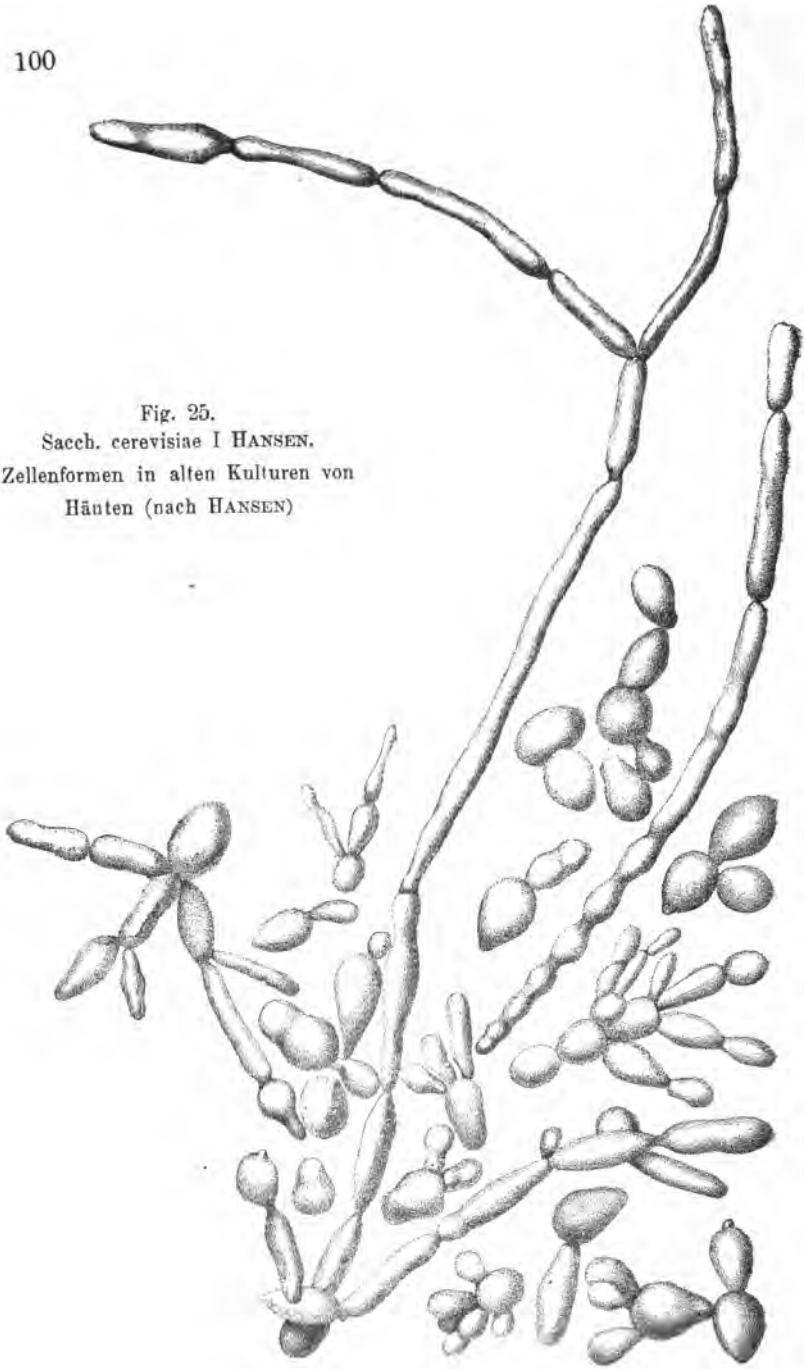

Fig. 25.
Sacch. cerevisiae I HANSEN.
Zellenformen in alten Kulturen von Hänten (nach HANSEN)

Obergärig.

Die in Würze entwickelte Vegetation von Bodensatzhefe (Fig. 23) besteht wesentlich aus grossen, runden oder ovalen Zellen; eigentlich in die Länge gestreckte Zellen treten nicht auf.

Alte englische obergärige Hefe; wird in den Brauereien Edinburghs und Londons benutzt.

Modus der Askosporenbildung (Fig. 22, 1):

Bei	$37^1/_2$° C.	entwickeln	sich	keine	Askosporen.					
„	36—37	„	zeigen	sich	die	ersten	Anlagen	nach	29	Stunden
„	35	„	„	„	„	„	„	„	25	„
„	$33^1/_2$	„	„	„	„	„	„	„	23	„
„	30	„	„	„	„	„	„	„	20	„
„	25	„	„	„	„	„	„	„	23	„
„	23	„	„	„	„	„	„	„	27	„
„	$17^1/_2$	„	„	„	„	„	„	„	50	„
„	$16^1/_2$	„	„	„	„	„	„	„	65	„
„	11—12	„	„	„	„	„	„	„	10	„
„	9	„	entwickeln	sich	keine	Askosporen.				

Sporen stark lichtbrechend. Wand der Sporen sehr deutlich. Grösse der Sporen $2\frac{1}{2}$—6 μ.

Hautbildung:

Bei	38° C.	trat	keine	Hautbildung	auf.					
„	33—34	„	fanden	sich	nach	9—18	Tagen	schwach	entwickelte	Hautflecke.
„	26—28	„	„	„	„	7—11	„	„	„	„
„	20—22	„	„	„	„	7—10	„	„	„	„
„	13—15	„	„	„	„	15—30	„	} (Fig. 24)	„	„
„	6— 7	„	„	„	„	2 – 3	Monaten			
„	5	„	trat	keine	Hautbildung	auf.				

Mikroskopisches Bild der Zellen in den Häuten:

Bei 20—34° C.: Kolonieen häufig; wurstförmige und barockgestaltete Zellen treten auf.

Bei 15— 6° C. (Fig. 24): Der grösste Teil der Zellen wie die der Aussaat geformt; einzelne abweichende Formen.

In alten Kulturen von Häuten treten alle Zellformen auf, bis zu sehr stark gestreckten, myceliumähnlichen (Fig. 25).

Saccharomyces Pastorianus I. Hansen.
(Fig. 26, 27).

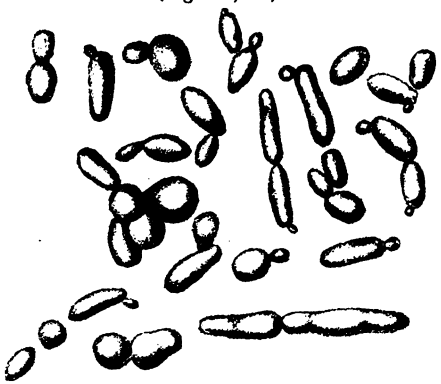

Fig. 26. Bodensatzformen (nach HANSEN).

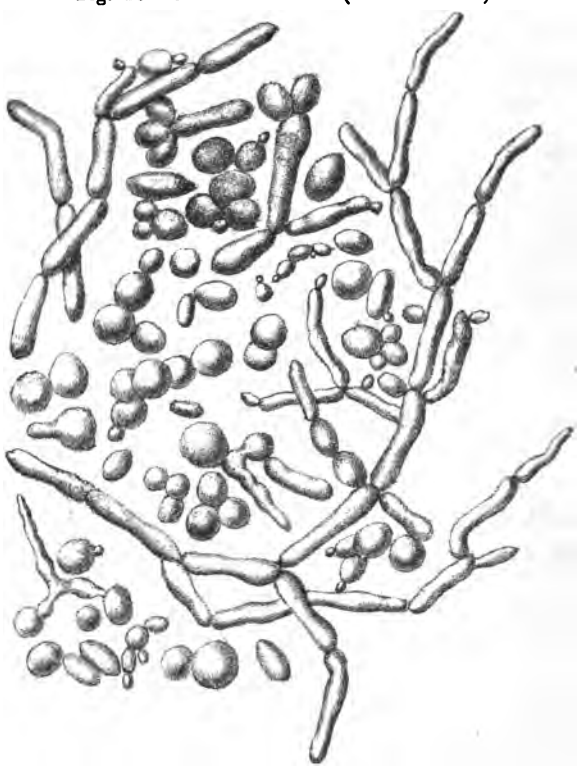

Fig. 27. Hautformen bei 13—15° C. (nach HOLMS Abbildungen in HANSENS Abhandlung).

Untergärig.

Bodensatzformen in Würze entwickelt: Vorwiegend gestreckte, wurstförmige, auch grosse und kleine ovale und runde Zellen (Fig. 26).

Kommt in der Luft der Gärungsräume häufig vor. Verleiht dem Biere einen auffallend bitteren Geschmack.

Modus der Askosporenbildung (Fig. 22, 2):

Bei	$31^1/_2$° C.	entwickeln	sich	keine	Askosporen.						
„	$29^1/_2$—$30^1/_2$	„	zeigen	sich	die	ersten	Anlagen	nach	30	Stunden	
„	29	„	„	„	„	„	„	„	27	„	
„	$27^1/_2$	„	„	„	„	„	„	„	24	„	
„	$23^1/_2$	„	„	„	„	„	„	„	26	„	
„	18	„	„	„	„	„	„	„	35	„	
„	15	„	„	„	„	„	„	„	50	„	
„	10	„	„	„	„	„	„	„	89	„	
„	$8^1/_2$	„	„	„	„	„	„	„	5	Tagen	
„	7	„	„	„	„	„	„	„	7	„	
„	3—4	„	„	„	„	„	„	„	14	„	
„	$^1/_2$	„	entwickeln	sich	keine	Askosporen.					

Grösse der Sporen $1\frac{1}{2}$—5 μ.

Hautbildung:

Bei	34° C.	tritt	keine	Hautbildung	auf.					
„	26—28 „	fanden	sich	nach	7—10	Tagen	schwach	entwickelte	Hautflecke.	
„	20—22 „	„	„	„	8—15	„	„	„	„	
„	13—15 „	„	„	„	15—30	„	} (Fig. 27)	„	„	
„	6— 7 „	„	„	„	1— 2	Monaten				
„	3— 5 „	„	„	„	5— 6	„	wie Fig. 27, doch ohne die grossen Kolonieen.			
„	2— 3 „	tritt	keine	Hautbildung	auf.					

Mikroskopisches Bild der Zellen in den Häuten:

Bei 20—28° C.: Beinahe dieselben Formen wie im Bodensatze.

Bei 13—15° C.: Stark entwickelte, myceliumartige Kolonieen von sehr gestreckten, wurstförmigen Zellen (Fig. 27) ziemlich häufig.

In alten Kulturen von Häuten sind die Zellen kleiner als im Bodensatze; es treten sehr barocke, bisweilen fast fadenförmige Zellen auf.

Saccharomyces Pastorianus II. Hansen.

(Fig. 28, 29.)

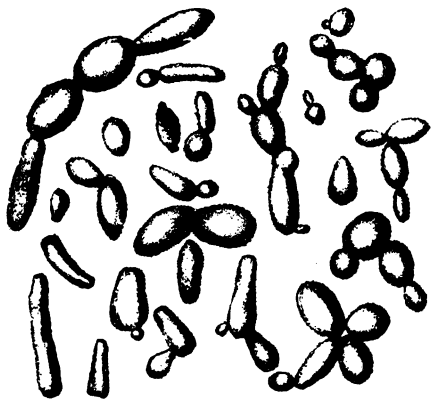

Fig. 28.

Bodensatzformen (nach HANSEN).

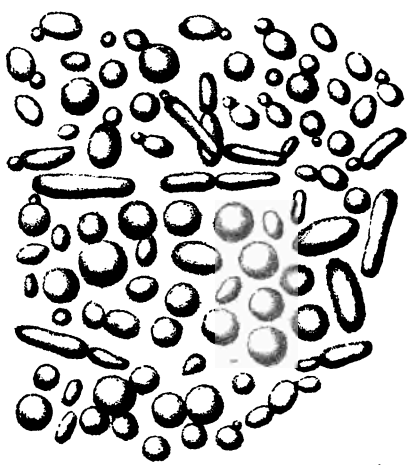

Fig. 29.

Hautformen bei 15—3° C. (nach HOLMs Abbildungen in HANSENs Abhandlung).

Schwach obergärig.

Bodensatzformen in Würze entwickelt: Vorwiegend gestreckte, wurstförmige, auch grosse und kleine ovale und runde Zellen (Fig. 28).

Kam in HANSENs Luftanalysen in der Brauerei häufig vor; scheint zu den Arten zu gehören, die im Biere keine Krankheiten hervorrufen.

Modus der Askosporenbildung (Fig. 22, 3):

Bei	29	° C.	entwickeln	sich	keine	Askosporen.				
„	27—28	„	zeigen	sich	die	ersten	Anlagen	nach	34	Stunden
„	25	„	„	„	„	„	„	„	25	„
„	23	„	„	„	„	„	„	„	27	„
„	17	„	„	„	„	„	„	„	36	„
„	15	„	„	„	„	„	„	„	48	„
„	$11^1/_2$	„	„	„	„	„	„	„	77	„
„	7	„	„	„	„	„	„	„	7	Tagen
„	3—4	„	„	„	„	„	„	„	17	„
„	$^1/_2$	„	entwickeln	sich	keine	Askosporen.				

Grösse der Sporen 2—5 μ.

Hautbildung:

Bei	34°	C.	tritt	keine	Hautbildung	auf.				
„	26—28	„	finden	sich	nach	7—10	Tagen	schwach	entwickelte	Hautflecke.
„	20–22	„	„	„	„	8—15	„	„	„	„
„	13—15	„	„	„	„	10—25	„			
„	6— 7	„	„	„	„	1— 2	Monaten	(Fig. 29)	„	„
„	3— 5	„	„	„	„	5— 6	„			
„	2— 3	„	tritt	keine	Hautbildung	auf.				

Mikroskopisches Bild der Zellen in den Häuten:

Bei 20—28° C.: Beinahe dieselben Formen wie im Bodensatze; dazu barocke, wurstförmige Zellen.

Bei 15—3° C.: Überwiegend ovale und runde Zellen.

In alten Kulturen von Häuten sind die Zellen kleiner als im Bodensatze; es treten sehr bärocke, bisweilen fast fadenförmige Zellen auf.

Saccharomyces Pastorianus III. Hansen.

(Fig. 30, 31.)

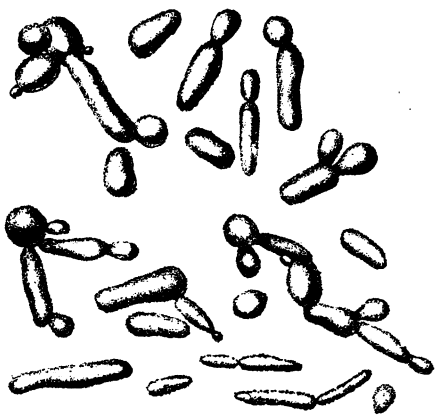

Fig. 30.

Bodensatzformen (nach HANSEN).

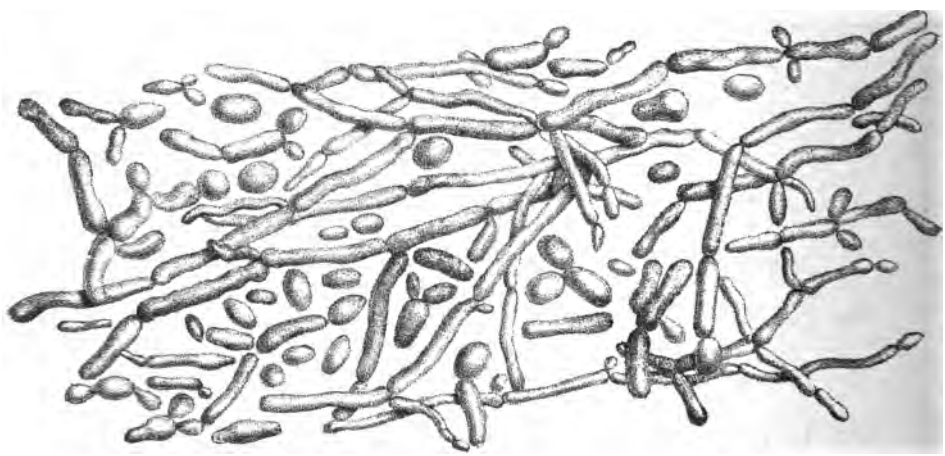

Fig. 31.

Hautformen bei 15—3° C. (nach HANSEN).

Obergärig.

Bodensatzformen in Würze entwickelt: Vorwiegend gestreckte, wurstförmige, auch grosse und kleine ovale und runde Zellen (Fig. 30).

Wurde von untergärigem, hefentrübem Bier ausgeschieden und ist von HANSEN als eine der biertrübenden Arten bestimmt worden.

Modus der Askosporenbildung (Fig. 22, 4):

Bei	29	° C.	entwickeln	sich	keine	Askosporen.				
„	27—28	„	zeigen	sich	die	ersten	Anlagen	nach	35	Stunden
„	26½	„	„	„	„	„	„	„	30	„
„	25	„	„	„	„	„	„	„	28	„
„	22	„	„	„	„	„	„	„	29	„
„	17	„	„	„	„	„	„	„	44	„
„	16	„	„	„	„	„	„	„	53	„
„	10½	„	„	„	„	„	„	„	7	Tagen
„	8½	„	„	„	„	„	„	„	9	„
„	4	„	entwickeln	sich	keine	Askosporen.				

Grösse der Sporen 2—4 μ.

Hautbildung:

Bei	34°	C.	tritt	keine	Hautbildung	auf.					
„	26—28	„	finden	sich	nach	7—10	Tagen	schwach	entwickelte	Hautflecke.	
„	20—22	„	„	„	„	9—12	„	„	„	„	
„	13—15	„	„	„	„	10—20	„				
„	6— 7	„	„	„	„	1— 2	Monaten	(Fig. 31)	„	„	
„	3— 5	„	„	„	„	5— 6	„				
„	2— 3	„	tritt	keine	Hautbildung	auf.					

Mikroskopisches Bild der Zellen in den Häuten:

Bei 20—28° C.: Beinahe dieselben Formen wie im Bodensatze.
Bei 15 — 3° C.: Stark entwickelte Kolonieen gestreckter, wurst- oder fadenförmiger Zellen, welche sich im Aussehen einem Mycelium sehr nähern (Fig. 31).

In alten Kulturen von Häuten Zellen derselben Formen wie bei 15—3° C., und oft noch dünnere, mehr fadenförmige.

Saccharomyces ellipsoideus I. Hansen.

(Fig. 32, 33.)

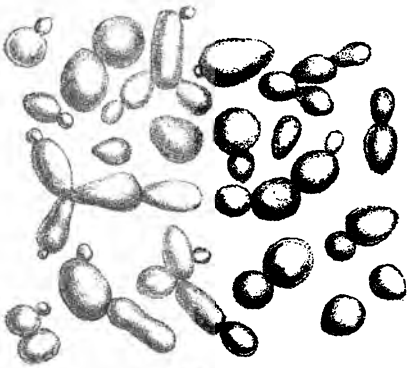

Fig. 32.
Bodensatzformen (nach HANSEN).

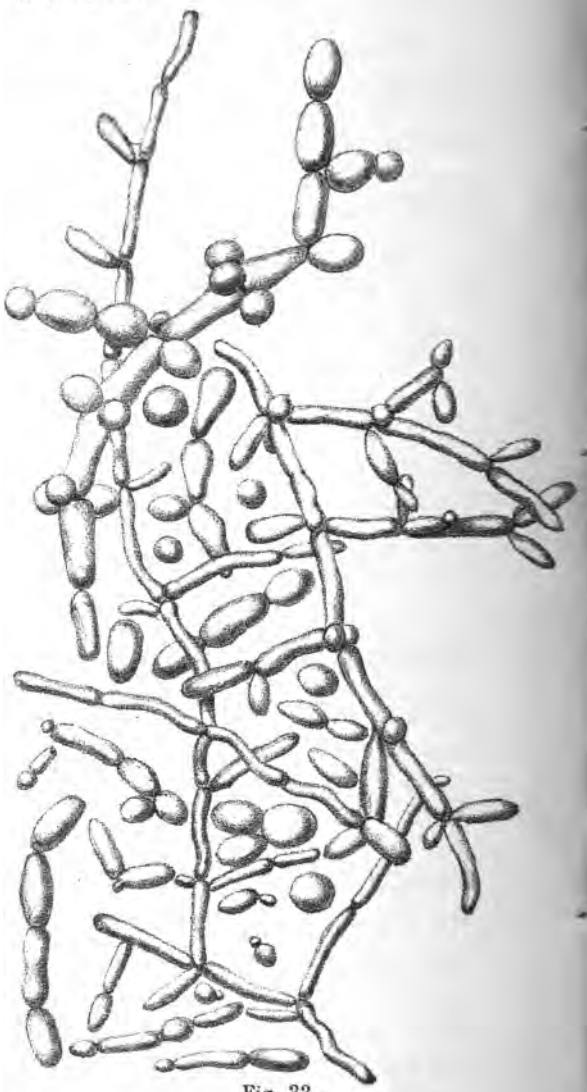

Fig. 33.
Hautformen bei 13—15° C. (nach HOLMS Abbildungen in HANSENS Abhandlung).

Bodensatzformen in der Würze entwickelt: Überwiegend ovale und runde Zellen; wurstförmige Individuen selten (Fig. 32).

Von der Oberfläche reifer Weinbeeren.

Modus der Askosporenbildung (Fig. 22, 5):

Bei	$32^1/_2$° C.	entwickeln	sich	keine	Askosporen.						
„	$30^1/_2$–$31^1/_2$	„	zeigen	sich	die	ersten	Anlagen	nach	36	Stunden	
„	$29^1/_2$	„	„	„	„	„	„	„	23	„	
„	25	„	„	„	„	„	„	„	21	„	
„	18	„	„	„	„	„	„	„	33	„	
„	15	„	„	„	„	„	„	„	45	„	
„	$10^1/_2$	„	„	„	„	„	„	„	$4^1/_2$	Tagen	
„	$7^1/_2$	„	„	„	„	„	„	„	11	„	
„	4	„	entwickeln	sich	keine	Askosporen.					

Grösse der Sporen 2—4 μ.

Hautbildung:

Bei	38° C.	tritt	keine	Hautbildung	auf.					
„	33—34 „	finden	sich	nach	8—12	Tagen	schwach	entwickelte	Hautflecke	
„	26—28 „	„	„	„	9—16	„	„	„	„	
„	20—22 „	„	„	„	10—17	„	„	„	„	
„	13—15 „	„	„	„	15—30	„	(Fig. 33)	„	„	
„	6— 7 „	„	„	„	2— 3	Monaten	„	„	„	
„	5 „	tritt	keine	Hautbildung	auf.					

Mikroskopisches Bild der Zellen in den Häuten:

Bei 20—34° C. und 6—7° C. kleinere und verhältnismässig mehr wurstförmige Zellen als im Bodensatze.

Bei 13—15° C.: Reich verästelte und stark entwickelte Kolonieen von kurzen oder langen wurstförmigen Zellen, oft mit quirlständigen Ästen (Fig. 33).

In alten Kulturen von Häuten dieselben Zellenformen wie bei 13—15° C.

Saccharomyces ellipsoideus II. Hansen.

(Fig. 34, 35.)

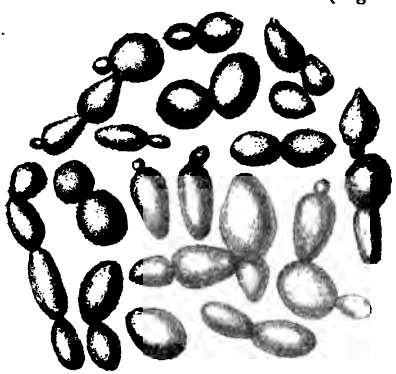

Fig. 34.

Bodensatzformen (nach HANSEN).

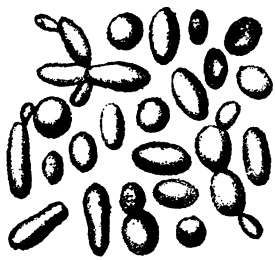

Fig. 35.

Hautformen bei 28—3° C. (nach HANSEN).

Bodensatzformen in Würze entwickelt: Überwiegend ovale und runde Zellen; wurstförmige Individuen selten (Fig. 34).

Aus hefetrüben Bieren ausgeschieden; eine biertrübende Art.

Modus der Askosporenbildung (Fig. 22, 6):

Bei	35	° C.	entwickeln	sich	keine	Askosporen.					
„	33—34	„	zeigen	sich	die	ersten	Anlagen	nach	31	Stunden	
„	33	„	„	„	„	„	„	„	27	„	
„	31½	„	„	„	„	„	„	„	23	„	
„	29	„	„	„	„	„	„	„	22	„	
„	25	„	„	„	„	„	„	„	27	„	
„	18	„	„	„	„	„	„	„	42	„	
„	11	„	„	„	„	„	„	„	5½	Tagen	
„	8	„	„	„	„	„	„	„	9	„	
„	4	„	entwickeln	sich	keine	Askosporen.					

Grösse der Sporen 2—5 μ.

Hautbildung:

Bei	40° C.	tritt	keine	Hautbildung	auf.					
„	36—38 „	finden	sich	nach	8—12	Tagen	schwach	entwickelte	Hautflecke.	
„	33—34 „	„	„	„	3—4	„	„	„	„	
„	26—28 „	„	„	„	4—5	„				
„	20—22 „	„	„	„	4—6	„				
„	13—15 „	„	„	„	8—10	„	(Fig. 35)	„	„	
„	6— 7 „	„	„	„	1—2	Monaten				
„	3— 5 „	„	„	„	5—6	„				
„	2— 3 „	tritt	keine	Hautbildung	auf.					

Mikroskopisches Bild der Zellen in den Häuten:
Bei allen Temperaturen dieselben Formen wie im Bodensatze, bei 15° C. und abwärts nur wenig mehr gestreckt (Fig. 35).

In alten Kulturen von Häuten: Kolonieen von kurzen und langen wurstförmigen Zellen, oft gequirlte Äste.

Nach dem Vorhergehenden können für diese sechs Arten folgende Differentialdiagnosen aufgestellt werden:

Saccharomyces cerevisiae I:

Praktisch verwendete obergärige Hefe.

Entwickelt Askosporen bei Temperaturen zwischen 11° und 37° C. (unter den S. 82—83 gegebenen Bedingungen).

Hautformen bei 13—15° C. (unter den S. 93 gegebenen Bedingungen): Überwiegende Mehrzahl der Zellen wie bei der Aussaat geformt.

Saccharomyces Pastorianus I:

Giebt dem Biere einen bitteren Geschmack.

Entwickelt Askosporen bei Temperaturen zwischen 3 und 30½° C.

Hautformen bei 13—15° C.: Ziemlich häufig stark entwickelte, myceliumartige Kolonieen von sehr gestreckten, wurstförmigen Zellen.

Saccharomyces Pastorianus II:

Verursacht keine Krankheiten im Biere.

Entwickelt Askosporen bei Temperaturen zwischen 3 und 28° C.

Hautformen bei 13—15° C.: Überwiegend ovale und runde Zellen.

Saccharomyces Pastorianus III:

Verursacht Hefentrübung.

Entwickelt Askosporen bei Temperaturen zwischen 8½ und 28° C.

Hautformen bei 13—15° C.: Stark entwickelte Kolonieen von wurst- oder fadenförmigen, myceliumähnlichen Zellen.

Saccharomyces ellipsoideus I:

Hefe der Weinbeeren.

Entwickelt Askosporen bei Temperaturen zwischen 7½ und 31½° C.

Hautformen bei 13—15° C.: Reich verästelte und stark

entwickelte Kolonieen von kurzen und langen Zellen, Äste oft quirlständig.

Saccharomyces ellipsoideus II:

Verursacht Hefentrübung.

Entwickelt Askosporen bei Temperaturen zwischen 8 und 34° C.

Hautformen bei 13—15° C. wesentlich wie in der Aussaat.

Saccharomyces exiguus Reess.

Wird von REES folgendermassen bestimmt: „Sprossungszellen kegelförmig oder kreiselförmig; 5 μ Längsdurchmesser auf 2,5 μ grössten Querdurchmesser. Sprossverbände spärlich verzweigt. Sporen 2 oder 3 in einer Längsreihe im isolierten Ascus. — Unter der Nachgärungshefe des Bieres; ruhig wirkender Alkoholfermentpilz.“ Ein Alkoholgärungspilz, welcher zunächst hierher zu gehören scheint, wurde von HANSEN genauer untersucht: Er vermochte die Maltose nicht zu vergären; in Verbindung hiermit steht, dass er in Würze für gewöhnliches Lagerbier nur ca. 1 Vol.-pCt. Alkohol produziert, während er dagegen in Saccharose- und Dextroselösungen eine starke Alkoholgärung hervorruft.

Von Sacch. exiguus wird in der zymotechnischen Litteratur viel gesprochen, da man geneigt ist, diesem Pilze verschiedene Betriebsstörungen zuzuschreiben; es sind aber dunkle Reden ohne Beweise.

Saccharomyces minor Engel.

Nach Beschreibung von ENGEL sind die vegetativen Zellen vollständig sphärisch, bis zu 6 μ Diameter, in Ketten oder wenigzelligen Flöckchen (6—9) vereinigt. Sporenbildende Zellen 7—8 μ, enthaltend 2—4 Sporen von 3 μ Diameter.

Dieser Organismus ist nach dem genannten Verfasser bei der Brotgärung das wirksamste Ferment. Vergl. jedoch, für das Schwarzbrot, die (p. 45) von LAURENT gemachten Beobachtungen.

Saccharomyces conglomeratus Reess.

Wird von REESS folgendermassen beschrieben: „Sprossungszellen rund, von 5—6 Mik. Durchmesser, zu Knäueln verbunden,

welche dadurch entstehen, dass aus der Achse zweier älteren Zellen, bevor diese in der Richtung ihrer gemeinsamen Längsachse zu einer Zellreihe weiter sprossen, meist gleichzeitig mehrere Sprossungen als Verzweigungen entstehen. Die Asci sehr häufig zu zweien verbunden bleibend oder mit je einer Vegetationszelle. Sporen 2—4, bei der Keimung die Knäuel wieder herstellend. Auf faulenden Trauben und in der Weinhefe zu Anfang der Gärung. Fermentwirkung zweifelhaft."

In HANSENs Kulturen von Hautbildungen der Saccharomyceten traten Zellenkolonieen von dem oben beschriebenen Aussehen bei allen sechs von HANSEN untersuchten Arten in den alten Häuten auf. Da dieser Forscher niemals eine bestimmte Spezies, welche als REESSsche Sacch. conglomeratus bezeichnet werden konnte, in seinen Kulturen traf, ist er geneigt anzunehmen, dass die erwähnten Zellenkolonieen bei den verschiedenen Saccharomyceten mit dieser Art identisch sind.

Die verschiedenen Hefenrassen oder Hefenarten können nach der Gärungsform in zwei Gruppen geschieden werden: Unterhefe und Oberhefe. Trotz vieler hierüber aufgestellten Behauptungen war es bis jetzt unmöglich, eine wirkliche Umbildung von Oberhefe in Unterhefe oder umgekehrt zu bewerkstelligen. Nach Untersuchungen von HANSEN und KÜHLE ist es wohl möglich, mit einer untergärigen Hefe vorübergehend Obergärungsphänomene hervorzurufen; diese verschwinden aber schnell bei fortschreitender Entwickelung der Hefe. Wenn dann behauptet wurde, dass man durch fortgesetzte Kultur z. B. der Unterhefe bei hoher Temperatur diese in Oberhefe verwandeln könnte, müssen wir vorläufig annehmen, dass die verwendete Unterhefe unrein war und Oberhefe beigemischt enthalten hat, welche während der Kultur bei hohen Temperaturen sich nach und nach auf Kosten der Unterhefe entwickelte, so dass sie endlich die Hauptmasse der Hefe ausmachte.[1])

Ausser der Bier-Oberhefe werden auch besondere obergärige

1) Eine vorläufige Gruppierung in praktischer Richtung der verschiedenen Rassen untergäriger und obergäriger Bierhefe, welche von HANSEN und in meinem Laboratorium im reinen Zustande dargestellt wurden, stellt sich wie folgt:

Rassen im Brennereibetriebe und in der Hefenfabrikation verwendet. Die Untersuchung dieser Rassen ist weniger vorgeschritten als die der Bier-Hefenrassen. Von BÊLOHOUBEK, SCHUMACHER und WIESNER liegen mikroskopische und chemische Untersuchungen vor, und namentlich enthalten des erstgenannten Verfassers „Studien über Presshefe“ (Prag 1876) genaue Beschreibungen des Aussehens der gemeinen Presshefe unter dem Mikroskope in den verschiedenen Stadien ihrer Entwickelung und Angaben mikroskopischer Kennzeichen der mehr oder weniger guten Beschaffenheit der fabrizierten Hefe, wie sie nach dem Inhalte der Zellen zu beurteilen ist. Die in Zersetzung begriffenen Zellen der Hefe verändern die Farbe und Konsistenz des Plasmas: dasselbe wird allmählich dunkler, dünnflüssig, die Vakuolen werden grösser, die scharfen Grenzen zwischen Vakuolen und Plasma verschwinden nach und nach, das Plasma zieht sich von der Zellwand zurück und ballt sich schliesslich in der Zellflüssigkeit in unregelmässige Klumpen zusammen; endlich verschwinden auch diese und zuletzt wird die Wand aufgelöst. Ausserdem kommen nach Angabe der genannten Autoren in der Presshefe Zellen vor, in welchen plötzlich eine grössere Anzahl kleiner Vakuolen auftreten; diese „abnorm vakuolisierten“ Zellen gehen schnell zu Grunde.

A. Untergärige Rassen.

1. Sehr schnell klärende und schwach attenuierende im Bottiche; stark schaumhaltendes Bier. Dieses ist bei längerer Aufbewahrung nicht haltbar gegen Hefentrübung. Solche Rassen eignen sich nur für Fassbiere (Schenkbiere).

2. Ziemlich schnell klärende und nicht stark attenuierende; Bier stark schaumhaltend; hohe Kräusen; diese Rassen liegen sehr fest im Bottiche. Das Bier ist nicht besonders haltbar gegen Hefentrübung. Eignen sich für Fass- und zum Teil für Lagerbiere.

3. Langsam klärende und stärker attenuierende Rassen; das Bier hat einen feinen Geschmack und Geruch, die Hefe liegt weniger fest im Bottiche. Das Bier ist gegen Hefentrübung sehr haltbar. Für Lagerbiere und speziell für Exportbiere, wenn solche nicht pasteurisiert oder mit Antisepticis behandelt werden, geeignet.

B. Obergärige Rassen.

1. Schwach attenuierende, schnell klärende. Das Bier hat einen süssen Geschmack.

2. Stark attenuierende, schnell klärende. Geschmack kräftiger.

3. Langsam klärende, führen eine normale Nachgärung durch. Geschmack mehr weinartig. Das Bier haltbar gegen Hefentrübung.

Anhang.

Andere Sprosspilze.

(„Torula", „Saccharomyces apiculatus", „Mycoderma cerevisiae" u. s. w.)

Wir geben eine Übersicht über solche für die Gärungsindustrie wichtige Pilze, welche mit den Saccharomyceten darin übereinstimmen, dass sie sich durch Sprossung vermehren; nur ausnahmsweise kommt ein Mycelium unter diesen Arten hervor. Dagegen unterscheiden sie sich alle von den Saccharomyceten durch den Mangel der für diese letzteren charakteristischen inneren Sporenbildung.

Eigentlich müssten die von HANSEN untersuchten Torulaformen, welche ein Mycelium geben, zu den Schimmelpilzen gerechnet werden. Da die Schimmelform jedoch noch nicht systematisch bestimmt ist, werden diese Arten aus praktischen Gründen mit in diese Darstellung gezogen.

Torula.

Die hefenartigen Formen, welche PASTEUR unter dem Namen Torula abbildet und beschreibt, sind sehr verbreitet und kommen daher nicht selten in den gärungsphysiologischen Analysen vor. Sie treten sowohl mit kugeligen als mit mehr oder weniger gestreckten Formen auf und unterscheiden sich, wie es zuerst HANSEN präzisierte, vom Genus Saccharomyces dadurch, dass sie in ihrem Innern keine Sporen bilden können. Sie vermehren sich in den meisten Fällen nur durch Sprossung, in einigen wenigen Fällen zugleich durch Mycelbildung.

HANSEN beobachtete fünf verschiedene Arten:

Die erste tritt in Würze entweder vereinzelt oder in aus wenigen Zellen bestehenden Kolonieen auf. Einige Zellen haben in der Mitte eine grosse Vakuole, bisweilen mit einem kleinen, stark lichtbrechenden Korne. Die Grösse der Zellen ist sehr variierend ($1\frac{1}{2}$ bis $4\frac{1}{2}$ μ). Die Art scheidet kein Invertin aus und bringt in Bierwürze eine kaum bemerkbare Alkoholgärung hervor.

Die zweite Art hat unter sonst gleichen Verhältnissen grössere Zellen als die erste (3 bis 8 μ); sie gleicht der vorigen, nur er-

halten die Zellen, in Würze kultiviert, oft einen stark körnigen Inhalt.

Die dritte Art, welche unterm Mikroskope wie die letztgenannte aussieht, bringt unter gleichen Verhältnissen bis zu $\frac{1}{8}$ Vol.-pCt. Alkohol hervor; sie giebt eine deutliche Schaumbildung und Kohlensäure-Entwickelung, kann aber die Saccharose nicht umbilden.

Die vierte Art (2 — 6 μ) kann die Saccharose umbilden, und bringt in Würze unter starker Schaumbildung ein wenig über 1 Vol.-pCt. Alkohol hervor, die Maltose vergärt sie aber nicht.

Die fünfte Art, welche (was Form und Grösse der Zellen anbelangt) mit der ersten Ähnlichkeit hat, entwickelt bei Zimmertemperatur auf Würze und auf Hefenwasser eine gleichartige, matt gräuliche Haut; ebenso auf Lagerbier, sogar auf Flüssigkeiten, welche bis zu 10 pCt. Alkohol enthalten. Sie bildet die Saccharose um und giebt in solcher Flüssigkeit ein schwaches Häutchen. Dagegen giebt sie keine merkliche Alkoholgärung.

Diese fünf Arten können durch das Mikroskop allein nicht unterschieden werden, auch nicht von den runden Zellen der Saccharomyces-Arten. PASTEUR trennte solche Torulaformen von der Gruppe der Saccharomyceten, weil sie nur eine sehr schwache Alkoholgärung hervorbrachten. Nach obigen Untersuchungen giebt es indess auch darunter Arten mit ausgeprägter Fermentwirksamkeit.

HANSEN nimmt mit einiger Wahrscheinlichkeit an, dass sie von höheren Pilzen abstammen und hat, wie gesagt, in ein paar Fällen bei seinen Kulturversuchen die Entwickelung eines Myceliums beobachtet.

Saccharomyces apiculatus.

(Fig. 36.)

Wie schon bemerkt, ist der Name dieses Pilzes nach der jetzt geltenden Auffassung nicht korrekt, indem zu den Saccharomyceten nur solche sprossende Pilze gerechnet werden können, die endogene Sporen hervorbringen; diese Fähigkeit besitzt unser Pilz nicht. Es mag jedoch richtig sein, wie HANSEN vorschlug, vorläufig den alten Genusnamen zu bewahren, bis eine weiter gehende Bearbeitung des ganzen Stoffes vorliegt.

Wie bekannt, gab dieser Pilz die Veranlassung zu einer der

schönsten durchgeführten biologischen Untersuchungen, indem HANSEN durch die Forschung mehrerer Jahre erreichte, sowohl ihre Aufenthaltsorte in der Natur wie ihre Wanderungen zu den verschiedenen Zeiten des Jahres nachzuweisen. Die Ursache, dass diese Spezies zur Untersuchung gewählt wurde, war die, dass, während die übrigen Arten mit äusserst verschiedenen und unbestimmten Formen auftreten, was das Studium ihres Auftretens an verschiedenen Lokalitäten in hohem Grade beschwerlich macht, dieser Pilz durch seine Form mit Sicherheit erkennbar ist, indem er in Kulturen immer mit zitronenförmigen Zellen auftritt; dies ist die typische Form der Art.

Der Pilz tritt in reichlicher Menge in der Weinhefe auf, namentlich in den ersten Stadien der Gärung, ferner in dem belgischen selbstgärenden Biere und reichlich auf reifen, süssen, saftigen Früchten.

Bringt man ein wenig einer solchen Vegetation in einen Tropfen Nährflüssigkeit unter das Mikroskop, so kann man die Entwickelung des Pilzes verfolgen. Diese ist, wie zuerst von HANSEN nachgewiesen, recht eigentümlich (cf. Fig. 36). Es zeigt sich,

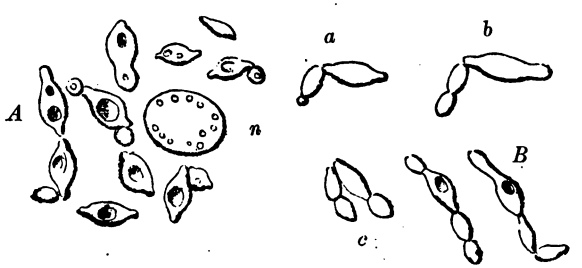

Fig. 36.
Saccharomyces apiculatus.

A: Entwickelungsformen; *n* Sacch. cerevisiae (zum Vergleich). *B*: Entwickelungsreihe von Saccharomyces apiculatus: *a* $2^1/_2$ Uhr, *b* $3^1/_4$ Uhr, *c* 4 Uhr (alle Zellen haben die Zitronenform angenommen); *d* 5 Uhr (die fortgesetzte Entwickelung der zwei Zellen rechts in *c*), *e* $5^1/_2$ Uhr. (Nach HANSEN.)

dass die von der typischen, zitronenförmigen Zelle gebildeten Knospen entweder zitronenförmig oder oval sein können; man nimmt ferner wahr, dass die ovalen Zellen zuerst eine oder mehrere Knospen bilden, ehe sie die Zitronenform annehmen, und endlich,

dass die Zitronenform einer Zelle während der Sprossungen verloren gehen kann. Unter anderen Verhältnissen können die Zellen ganz abweichende Formen annehmen: wurstförmig, halbmondförmig, bakterienähnlich u. s. w. Giebt es nun eine Regel in diesem anscheinenden Gewirre von Formen? In dem Vorhergehenden wurde gezeigt, dass der Pilz zwei Arten von Knospen abschnüren kann, und dass die ovalen Knospen eine oder mehrere Knospen abschnüren müssen, bevor sie die typische Form annehmen. Die Frage ist nun: Unter welchen Bedingungen werden die zwei Arten von Knospen entwickelt? Durch Kulturversuche wurde gezeigt, dass die zitronenförmigen Knospen namentlich in den ersten Stadien der Kultur sich entwickeln, später dagegen von den ovalen zurückgedrängt werden.

Wir geben hiernach die weitere Geschichte des Pilzes in physiologischer und biologischer Richtung.

Sacch. apiculatus ist eine Unterhefenform, welche in der Bierwürze Alkoholgärung hervorbringen kann; doch ist die Alkoholgärung in dieser Flüssigkeit schwach, indem S. apic. nur 1 Vol.-pCt. Alkohol hervorbringt, während S. cerevisiae (Unterhefe) unter den gleichen Verhältnissen 6 Vol.-pCt. giebt. Dies rührt davon her, dass der Pilz die Maltose nicht vergären kann. HANSEN entdeckte ferner die Eigenschaft, dass die Sacch. apicul. kein Invertin ausscheidet. In Dextroselösungen ruft sie dagegen, wie von BOUTROUX nachgewiesen ist, kräftige Alkoholgärung hervor.

Durch Versuche, bei welchen dieser Pilz mit Sacch. cerevisiae vermischt in Bierwürze kultiviert wurde, zeigte sich, dass er wohl als der Schwächere von S. cerevis. zurückgedrängt wird, dass er jedoch in nicht geringem Grade die S. cerevis. hemmt.

In Kolben mit derselben Bierwürze und bei derselben Temperatur, deren jeder eine Art enthält, wird die Sacch. apic. im gegebenen Zeitintervalle sich stärker als Sacch. cerevisiae vermehrt haben.

Insofern nun der Pilz in der kritischen Zeit des Jahres in grösserer Menge in der Würze auftritt, kann er sich längere Zeit neben der Sacch. cerevis. erhalten und dieselbe hemmen; wenn das Bier aber in den Lagerraum überführt wird, so liegt der Pilz

unwirksam in der alkoholreichen Flüssigkeit und geht häufig zu Grunde.

Der interessanteste Abschnitt im Leben dieses Pilzes sind seine von HANSEN aufgeklärten Verhältnisse in der freien Natur. Durch mikroskopische Untersuchungen zeigte sich im Laufe des Sommers, dass der Pilz mit der Reife der süssen saftigen Früchte (Kirschen, Stachel- und Erdbeeren, Trauben, Pflaumen u. s. w.) auf diesen in reicher Entwickelung auftritt. Dagegen wurde er nur als reine Ausnahme auf denselben Früchten im unreifen Zustande gefunden. Da er auf den genannten reifen Früchten in kräftiger Sprossung gefunden wird, dagegen gar nicht oder nur ausnahmsweise auf anderen Früchten, Blättern, Zweigen u. s. w., so war hiermit dargethan, dass S. apic. auf diesen Früchten im reifen Zustande seinen eigentlichen Aufenthaltsort hat. Dies wurde ferner dadurch bewiesen, dass er immer, ohne Ausnahme, in der Erde unter den Kirsch- und Pflaumenbäumen, Weinreben und anderen Pflanzen, an dessen Früchten er auftrat, gefunden wurde, dagegen nur äusserst selten in den zahlreichen Erdeproben der verschiedensten anderen Lokalitäten. Ohne Zweifel bringen die herabgefallenen Früchte und der Regen den Pilz auf und in die Erde an den genannten Orten, und die Frage ist dann, ob er auch hier überwintert. Die Antwort wurde auf zweierlei Weise gegeben: Teils wurden im Laufe des Winters und des Frühjahrs zahlreiche Proben der Erde von diesen Orten genommen — diese gaben, in Kolben mit Würze eingeführt, in weitaus den häufigsten Fällen eine kräftige Vegetation unseres Pilzes — teils wurden Kulturen von S. apic. in der Erde mit aller Vorsicht angebracht und im Laufe des Winters sich selbst überlassen. Im Frühjahre und Vorsommer wurde diese Erde wieder aufgenommen, und die Kulturversuche legten dar, dass der Pilz in allen Proben lebendig war. Hierdurch war bewiesen, dass der Pilz in der Erde überwintern kann, wie es früher gezeigt wurde, dass er wesentlich nur an den angegebenen Orten in der Erde sich findet.

Schliesslich blieb noch zu beweisen, dass die Erde sein eigentlicher Aufenthaltsort in der Winterzeit ist; dies geschah in der Weise, dass HANSEN von Januar bis Juni den Staub an den verschiedensten Orten untersuchte, ferner die

eingetrockneten, herabgefallenen Früchte vieler Pflanzen und endlich auch verschiedene Exkremente. Diese 71 Analysen gaben ein negatives Resultat, und hierdurch war der Beweis geliefert: Der eigentliche Winter-Aufenthaltsort des Pilzes ist die Erde unter den genannten Pflanzen. Er bewahrt in der langen Winterzeit sein gewöhnliches Aussehen und wird im Sommer durch die vereinten Kräfte der Insekten und des Windes wieder in die Luft emporgeführt.

Es ist klar, dass der Pilz zu der Zeit, wo er in reicher Menge auf den genannten reifen Früchten auftritt, von den Luftströmungen auch nach anderen Orten geführt werden kann, so auch auf unreife Früchte. Schon in seiner ersten Abhandlung gab HANSEN an, dass das seltene Vorkommen auf unreifen Früchten darin seinen Grund haben möchte, dass der Pilz hier schnell zu Grunde geht, teils wegen Mangel an Nahrung, teils wegen der Austrocknung seiner Zellen. Später hat der genannte Forscher durch Experimente die Richtigkeit dieser Anschauung dargethan. Er rührte teils alte, teils junge Zellen in Wasser um und brachte sie in dünnen Schichten entweder auf Objektgläser oder auf dünn ausgezogene baumwollene Büschel, wonach sie der Eintrocknung, vor der Sonne geschützt, überlassen wurden. Nach weniger als 24 Stunden waren sämtliche Zellen abgestorben. Es leuchtet von selbst ein, dass die vereinzelt liegenden Zellen auf den unreifen Früchten noch ungünstiger als im Experimente gestellt sind. — Wurden dagegen die Zellen in dickeren Schichten in Baumwolle oder Filtrierpapier eingewickelt, so hielten sie sich wie in der Erde lange Zeit lebendig, z. B. in Filtrierpapier über acht Monate.

Mycoderma cerevisiae und vini (Saccharomyces Mycoderma)

gehören noch jetzt, trotz der umfangreichen Litteratur, welche über diese Pilze vorliegt, zu den wenigst bekannten unter den Organismen gärender Flüssigkeiten, indem die Speziesfrage hier noch nicht eingehend erörtert wurde. Sie treten in den Kulturen sehr leicht auf und haben — nach BĚLOHOUBEKs Beobachtungen in böhmischen Brauereien — durch ihre starke Entwickelung im Biere sehr bedeutende Geldverluste bewirkt.

Das auf dem Biere und der Würze auftretende Mycoderma (cerevisiae) ruft, wie bekannt, eine matte, grauartige, oft gefaltete Kahmhaut hervor. Die gleiche Vegetation erhielt HANSEN, wenn er Carlsberger Lagerbier in offenen Gläsern niedrigeren Temperaturen — 2—15° C. — aussetzte. Der Pilz entwickelt sich noch bei 33° C.; bei Temperaturen oberhalb 15° C. weicht er jedoch mehr und mehr den Konkurrenten, namentlich wenn man 26° C. passiert. Da er somit bei niedrigen Temperaturen sehr gute Chancen für seine Entwickelung hat, so hat man allen Grund, sein Umsichgreifen im Lagerkeller zu fürchten, zumal das Lagerbier für diesen Organismus eine weit günstigere Nährflüssigkeit als die Würze ist. Dies ging aus folgenden Versuchen hervor: Wenn HANSEN Spuren einer reinen Kahmhaut in offene Gläser mit Lagerbier und Würze überführte und diese in freier Luft stehen liess, wo verschiedene Keime zugegen waren, so hielt sich die Kultur im Biere beinahe immer rein, während auf der Würze verschiedene Arten auftraten.

Die rein mikroskopischen Untersuchungen zeigen, dass Mycoderma in verschiedenen Formen auftreten kann; die Zellen sind gewöhnlich klar und weniger lichtbrechend als die der eigentlichen Saccharomyceten; in jeder Zelle treten gewöhnlich 1, 2 oder 3 stark lichtbrechende Körner auf, welche sich oft in einer zitternden, rollenden Bewegung befinden.

Nach CIENKOWSKI sollen sich die Zellen zu einem Mycelium entwickeln können.

WINOGRADSKY wies nach, dass Mycoderma vini, in Reinkulturen nach HANSENs Methode dargestellt, seine Form nach der Zusammensetzung der Nährflüssigkeit ändert; er experimentierte teils mit Flüssigkeiten, deren mineralische Bestandteile konstant blieben, während die organischen Stoffe wechselten, teils mit solchen, wo das Entgegengesetzte der Fall war.

Obgleich DE SEYNES und einige andere Forscher meinten, bei diesem Pilze Askosporen gefunden zu haben, so gelang es später doch nicht, diese Bildungen hervorzurufen; die vorliegenden Figuren deuten darauf hin, dass man die bei vielen einzelligen Pilzen im Ruhestadium auftretenden Fettkügelchen mit den Sporen verwechselt hat. Der alte Name Mycoderma des Pilzes ist daher glücklicher als der neue Saccharomyces.

Es wurde somit vorläufig nicht genügend dargethan, ob Mycoderma cerevisiae und vini verschiedene Arten sind.

Ein Fortschritt wurde jedoch gemacht, indem HANSEN ein rein makroskopisches Kennzeichen für diesen Genus oder diese Gruppe von kahmhautbildenden Hefenzellen gefunden hat. Wie früher bemerkt, geben die verschiedenen Saccharomyces-Arten und Saccharomyces apiculatus auf einer Mischung von Würze und Gelatine Kolonieen, welche nicht deutlich von einander gesondert werden können. Anders stellt sich aber die Sache für die Mycoderma-Arten. Während die eigentlichen Saccharomyceten in der Gelatine Flecken von hell graugelber Farbe geben, mit trockener oder glänzender Oberfläche und als kleine Stecknadelköpfe geformt, sind dagegen die durchgebrochenen Flecken des Mycoderma cerevisiae und vini und einiger verwandten Arten hellgrau und hautartig ausgebreitet oder schalenförmig vertieft. Hat man dies ein Mal selbst gesehen, so ist es ziemlich leicht, diese Flecken zu kennen.

Was die genetische Verbindung dieses Pilzes mit dem Soorpilze betrifft, liegt eine recht grosse Litteratur vor, welche am besten zeigt, wie wenige feste Charaktere man zur Untersuchung und Bestimmung der Vegetation besitzt.

Diese Pilze rufen im Substrate bedeutende Änderungen hervor. Man findet in der Litteratur Angaben darüber, dass sie, in eine zuckerhaltige Nährflüssigkeit getaucht, eine schwache Alkoholgärung hervorbringen können, und dass sie an der Oberfläche vinöser Flüssigkeiten eine Oxydationsgärung hervorrufen, wodurch in einigen Fällen Alkohol zu Kohlensäure und Wasser, in anderen zu Essigsäure umgebildet wird; sie sollen auch Fettsäuren bilden, dieselben oxydieren und Ätherarten hervorbringen können (SCHULZ).

6. Kapitel.

Die Anwendung der Resultate der wissenschaftlichen Forschung in der Praxis.

Die Frage: Welche für die Praxis direkt verwendbaren Resultate können aus den in diesem Buche dargestellten Thatsachen entnommen werden? — lässt sich in aller Kürze folgendermassen beantworten.

PASTEUR hat nachgewiesen, dass die Bakterien in die verschiedenen Gärungen störend eingreifen und in der Flüssigkeit Krankheiten hervorrufen können.

Man muss folglich in der Weise arbeiten, dass Infektionen dieser Art vermieden werden, am besten dadurch, dass die unreine Luft keinen Zutritt zu den Flüssigkeiten erhält. Die Konsequenz dieser Lehre ist für die Brauerei speziell die Weglassung der offenen Kühlschiffe und Kühlapparate, die Lüftung der Würze durch vorher geglühte oder mittels Baumwolle gereinigte Luft, und die Reinigung der Luft in den Gärungsräumen.

Von grossem praktischem Werte sind ferner die im Kap. VII der Études gegebenen Erläuterungen über die Bedeutung der Oxydation der Würze während der Abkühlung. Durch direkte Messungen der Sauerstoffmenge in der Würze zeigte PASTEUR, dass ein gewisses Quantum Sauerstoff teils im freien, teils im gebundenen Zustande in der Würze den Gang der Gärung und die Klärung beeinflusst, dass aber der Sauerstoff, wenn sein Gehalt in der Würze gewisse Grenzen überschreitet, schädlich auf den Charakter (force et arome) des Bieres einwirkt (S. 377).

Eine Frucht von PASTEURs Arbeiten über die Bakterien ist ferner, wie früher erwähnt, eine verbesserte Essigfabrikation.

Das APPERTsche Verfahren zum Konservieren gegorener Getränke wurde von PASTEUR verbessert; dies war von der grössten Bedeutung sowohl für die Bier- als für die Weinfabrikation.

Die in den Études dargestellten Lüftungsversuche gaben

die Veranlassung zu einer grossen Reihe von Arbeiten, welche für die Brauerei zwar bisher nur von theoretischem Interesse waren, die aber in der Spiritus- und Presshefenfabrikation eine grosse Rolle spielen, indem hierdurch wichtige Aufklärungen über die Gärungs- und Vermehrungsfähigkeit der Hefenzelle bei verschiedener Luftzufuhr gewonnen wurden.

Über das Verhalten der Bakterien in der Spiritus- und Presshefenfabrikation liegt eine ganze Reihe von Beobachtungen verschiedener Forscher vor, welche jedoch alle sehr allgemein gehalten sind und daher im einzelnen vorliegenden Fall keine sicheren Schlüsse zulassen. Dies rührt hauptsächlich davon her, dass die festen Unterscheidungsmerkmale dieser Mikroorganismen noch nicht gegeben sind.

Mit HANSENs Arbeiten über die Alkoholgärungspilze begann eine neue Periode in der Geschichte der Gärungsindustrie. Durch die wissenschaftliche Forschung hat er nachgewiesen, dass sich unter den Sprosspilzen begrenzte Arten finden, deren Charaktere in der für die Praxis ausgeführten Analyse verwendet werden können. Auf dieser Grundlage und durch Experimente im grossen unter den gewöhnlichen praktischen Verhältnissen ausgeführt, hat HANSEN bewiesen, dass die allgemein gefürchtete Hefentrübung nicht, wie es in zahlreichen Abhandlungen in den zymotechnischen Zeitschriften oft dargestellt wurde, von dem Wasser, dem Malze, der besonderen Braumethode und dergl. herrührt, dass diese Krankheit vielmehr auf die Hefe selbst zurückgeführt werden muss, indem die Anstellhefe ausser der Kulturrasse auch andere Saccharomyces enthielt, welche Krankheitskeime waren (Sacch. Pastorianus III und Sacch. ellipsoideus II), die sich während der Nachgärung stark vermehrten, wenn die Flüssigkeit den Lagerraum verliess.

Aus zahlreichen nach der gefundenen Methode ausgeführten praktischen Analysen resultiert ferner die Lehre, dass die früher allgemein aufgestellten Regeln für den Verlauf einer gesunden Gärung nicht hinreichen, um das Vorhandensein der genannten Krankheit konstatieren zu können, indem sowohl Decke der Flüssigkeit als Attenuation, Bruch und Klärung zufriedenstellend sein können, während die Hefe doch stark von Krankheitskeimen angesteckt ist. Dasselbe Verhältnis wurde in solchen Fällen nach-

gewiesen, wo das Bier einen unangenehmen bitteren Geschmack bekam, was ebenfalls von Krankheitskeimen (Sacch. Past. I) in der Anstellhefe herrühren kann.

Bezüglich der hefentrübenden Formen wurde bewiesen, dass sie in einem Verhältnisse bis zu $\frac{1}{41}$ der Anstellhefe gegenwärtig sein können, ohne irgend welchen schädlichen Einfluss auszuüben, wenn der Betrieb regelmässig geführt wird.

Um diesen und anderen Störungen im Betriebe, welche von wilden Hefenarten herrühren, zu entgehen, hat HANSEN gegeben:

1) Eine Methode für die praktische Analyse, mittels welcher es möglich ist, sich bei Zeiten gegen das Überhandnehmen solcher Keime zu sichern. Durch Versuche der Herren HOLM und POULSEN wurde nachgewiesen, dass man durch diese Methode eine Einmischung von $\frac{1}{200}$ wilder Hefen auffinden kann. Wie oben angegeben, thut unter geeigneten Verhältnissen $\frac{1}{41}$ noch keinen Schaden.

2) Eine Methode für die Reinigung der Hefe von allen fremden Keimen, indem eine Zelle der gewünschten Kulturhefe ausgeschieden und entwickelt wird, bis ein passendes Quantum absolut reiner Hefe erreicht ist, welches dann in den Gärungsraum eingeführt und hier weiter propagiert wird [1]).

---

1) Eine ganz andere Methode zur „Regenerierung" der untergärigen Hefe hat Hayduck angegeben. Indem er die Hefe beim fortgesetzten Gebrauche in der Brauerei untersuchte, fand er, dass die Anstellhefe von einer Gärung zur anderen an Stickstoff zunahm und in vielen Fällen damit gleichzeitig gärkräftiger wurde; er vermutete daher, dass die Degenerierung der Hefe hiermit in nahem Zusammenhange stehe und versuchte dann, die degenerierte Hefe stickstoffärmer zu machen. Dies geschah dadurch, dass die Hefe in einer 10prozentigen Rohrzuckerlösung kultiviert wurde (auf 100 Ltr. Vergärungsflüssigkeit kamen 10 *kg* Zucker, 300 *g* Hopfen und dazu phosphorsaures Kali und schwefelsaure Magnesia). Das Verfahren wurde in ungefähr 10 Brauereien eingeführt, und HAYDUCK hat im allgemeinen fast nur von guten Resultaten gehört.

Nach Angaben von AUBRY sind im Laboratorium der wissenschaftlichen Station München seit langer Zeit Hefenanalysen ausgeführt worden, welche besonders auf die Veränderungen des Stickstoffgehaltes der Hefen gerichtet waren. Diese haben jedoch Resultate ergeben, die es als nicht zulässig erscheinen lassen, die Anreicherung und Abnahme an Stickstoff mit der Gärtüchtigkeit in unmittelbaren Zusammenhang zu bringen: „Die Schwankungen im Stickstoffgehalt normaler Hefen in den verschiedenen auf einander folgenden Generationen sind zu gross (sie können über ein Prozent betragen), ohne dass man wesentliche

Diese absolut reinen, für die Industrie dargestellten Massenkulturen planmässig ausgewählter Hefenrassen sind jetzt, nach kaum 3 Jahren, nachdem der erste Versuch in der berühmten Brauerei Alt-Carlsberg, Capit. Dr. JACOBSEN, Kopenhagen, gemacht wurde, in zahlreichen Brauereien in allen bierbrauenden Ländern eingeführt.

Von meinem Laboratorium ging in der jüngsten Zeit eine recht beträchtliche Zahl von Reinkulturen aus, sowohl von untergäriger als von obergäriger Hefe. So hat auch die wissenschaftliche Station München zahlreiche Reinkulturen untergäriger Hefen vorgenommen, und es liegen hierüber Berichte von dem Direktor Dr. AUBRY, dem Assistenten Dr. WILL und später vom Professor Dr. LINTNER vor. Ich führe einige dieser Urteile hier auf.

Prof. Dr. LINTNER giebt das folgende Résumé der allgemeinen Auffassung der Sachlage [1]).

Nachdem verschiedene Brauereien die reinkultivierten Hefen-

Veränderungen im Gärungsverlauf und Vergärungsgrad bemerkt. Ferner findet bei wiederholtem Anstellen ein und derselben Hefe in derselben Brauerei nicht immer eine Anreicherung an Stickstoff statt, eine solche ist sogar nach unseren Beobachtungen verhältnismässig selten".

In derselben Weise äussert sich BÊLOHOUBEK (Prag): „Auch aus meiner eigenen Erfahrung kann ich Fälle registrieren, wo ich nicht im stande war, an der Bierhefe selbst nur den geringsten Mangel aufzufinden, wo ich selbst bei Anwendung der grössten Rigorosität bei ihrer Prüfung mit dem Mikroskope keine Gebrechen an der betreffenden Hefe konstatieren konnte, und doch war man nicht imstande, bei Verwendung derselben im grossen zu günstigen Resultaten zu gelangen. Nachdem ich in einer solchen Anstellhefe die Menge der Trockensubstanz, des Stickstoffes, der Aschenbestandteile, sowie auch der Phosphorsäure sichergestellt hatte, fand ich sehr häufig keine anderen Abweichungen oder Differenzen von den Durchschnittsgrössen dieser Ziffern als solche, welche sich in den üblichen Grenzen bewegen und auch bei Analysen anderer Hefenproben vorzukommen pflegen, die sich in den Gärlokalitäten ganz vorzüglich bewährt hatten".

Aber ganz davon abgesehen, dass die von HAYDUCK angegebene Methode — wie er selbst sagt — nicht gemeingültig ist, sondern nur in gewissen Fällen mit Erfolg benutzt werden kann, so muss eine solche Kultur der Hefe in Zuckerlösungen immer als ein rein vorläufiges Hülfsmittel aufgefasst werden, nicht als eine wirkliche Reinigung, d. h. eine Ausscheidung solcher Mikroorganismen, welche schädliche Veränderungen in der Beschaffenheit des Produktes herbeiführen. Dies ist immer nur durch HANSENs Methoden der Reinkultur möglich.

1) Zeitschr. f. d. ges. Brauw. 1885, S. 399.

rassen Carlsbergs verwendet haben, ferner die wissenschaftliche Station in München auch mit Münchener Hefen reinkultivierte Hefe in den Brauereien eingeführt hat, lassen sich die sich ergebenden Thatsachen in folgendem zusammenfassen:

1. Durch Verunreinigung mit sog. wilden Hefen kann eine sonst normale Brauhefe allmählich untauglich zur Erzeugung eines wohlschmeckenden und haltbaren Bieres werden.
2. Eine solche Verunreinigung kann durch die zur Sommer- und Herbstzeit im Luftstaube enthaltenen wilden Hefen eintreten, oder auch durch Einschleppung mittels anderer Hefen oder Gelägerbestandteile.
3. Aus einer verunreinigten Hefe lässt sich die erwünschte Brauhefe in reinem, gutem Zustande unter Anwendung der Prüfungs- und Reinzüchtungs-Methoden HANSENs isolieren.
4. Die reingezüchtete Hefe zeigt in hervorragendem Grade wieder die Eigenschaften der ursprünglichen Hefe vor der Verunreinigung, sowohl in Bezug auf Vergärungsgrad als auch Geschmack und Haltbarkeit der betreffenden Biere.
5. Es existieren verschiedene Rassen des normalen Untergärungsbierhefepilzes (Sacch. cerevisiae) mit spezifischen Eigenschaften, welche letztere als Rasseneigentümlichkeit sich konstant erhalten.

Direktor Dr. AUBRY sagt[1]): „Ausser den angegebenen Brauereien (Spatenbräu und Leistbräu, München) hatte eine grosse Anzahl von Brauereien des In- und Auslandes von der Carlsberger reinen Hefe erhalten, und damit versuchsweise ihre Gärungen angestellt. Selbstverständlich waren die Resultate, welche man erwartet hatte, nicht überall eingetroffen, der Vergärungsgrad wurde grösstenteils als zu niedrig bezeichnet[2]), der Geschmack war nicht der ortsbeliebte u. s. w., aber alle Berichte, welche uns bekannt wurden, lauteten günstig über Haltbarkeit, Glanz der Biere, Freiheit von Hefengeschmack derselben. Die guten Eigenschaften der Hefe haben ausserdem

1) Zeitschr. f. d. ges. Brauw. 1885.
2) Carlsberger Hefe Nr. 2.

manche Brauereien veranlasst, dieselbe ständig einzuführen, wie z. B. die Liesinger Brauerei in Liesing bei Wien. In der gegenwärtigen Braukampagne hat die Brauerei zum Spaten in München in umfangreichster Weise von der aus Carlsberg bezogenen Hefe Anwendung gemacht, und ebenso war auch in der Brauerei zum Franziskanerkeller in München ein grosser Teil der den Winter hindurch verwendeten Stellhefen von Carlsbergs Reinkulturen abstammend. Die Gärungserscheinungen und die Resultate hinsichtlich Geschmack, Mousseux und Haltbarkeit der Biere waren allen Anforderungen entsprechend. Die etwas niedrigen Vergärungen scheinen im Charakter der Hefe zu liegen, da sie sich konstant erhalten. Der Geschmack der Biere ist anfangs dem gewohnten Münchener Geschmack gegenüber etwas verschieden, nähert sich aber bei späteren Generationen letzterem etwas mehr, bleibt aber weich und lieblich."

WILL schreibt[1]): „Wenn nun, wie ich eben klargelegt zu haben glaube, die Möglichkeit gegeben ist, die für den Brauereibetrieb schädlichen Hefenarten sicher zu erkennen, so müssen wir aus diesen Errungenschaften auch für die Praxis Nutzen ziehen und nur solche Zeuge verwenden, welche die für die schädlichen und den Betrieb so häufig in der empfindlichsten Weise störenden Arten angegebenen Merkmale nicht zeigen. Dies wird aber nur dann möglich sein, wenn aus den gewöhnlichen Brauhefen die mit den Eigenschaften der normalen Unterhefe begabten Hefenzellen isoliert und unter Ausschluss jeglicher Verunreinigung weiter gezüchtet werden, mit anderen Worten, wenn nur rein kultivierte Hefen im Betrieb zur Verwendung kommen. HANSEN beansprucht auch in dieser Beziehung das grosse Verdienst, den Weg gezeigt und eine Methode ausgearbeitet zu haben, welche es ermöglicht, das angestrebte Ziel zu erreichen. Die durchschlagenden Erfolge, welche in Alt-Carlsberg mit der rein gezüchteten Hefe erzielt wurden, haben schon viele Brauereien veranlasst, nur mit rein gezüchteter Hefe zu arbeiten, und sind im allgemeinen die Resultate zur Zufriedenheit ausgefallen, wenn nur die den Anforderungen an Vergärungsgrad und Geschmack entsprechenden Rassen der normalen Unterhefe gewählt wurden.

1) Allg. Brauer- und Hopfenzeitung 1885.

Möchte daher die Erkenntnis von dem Wert der rein gezüchteten Hefe in immer weitere Kreise dringen und so manches alte Vorurteil in Beziehung auf die Hefe überwunden werden; möchten doch auch die kleineren Brauereien, welche ja ohnedies mit manchen Schwierigkeiten zu kämpfen haben, sich der Überzeugung nicht verschliessen, dass mit der Einführung rein gezüchteter Hefe bei sonst richtig geleitetem Betrieb sich eine Reihe von Kalamitäten überwinden lässt. Die aufgewendeten Kosten werden reichliche Zinsen tragen."

In ähnlicher Weise spricht sich auch LOUIS MARX (Marseille) aus. —

Eines der ersten, wichtigen Resultate, welche eingeholt wurden, nachdem HANSENs Reformbestrebungen an den verschiedensten Orten in der Praxis geprüft waren, ist dieses, dass sich wirklich unter dem Artnamen Saccharomyces cerevisiae eine Reihe von Arten oder Varietäten verbirgt, welche höchst verschiedene Eigenschaften zeigen. Es wurde hierdurch eine weite Aussicht darauf geöffnet, den Verlauf und die Resultate der Gärung zu bestimmen und zu beherrschen, und schon jetzt liegen bedeutende praktische Errungenschaften vor.

Es zeigte sich in zahlreichen Versuchen, dass die Charaktere, welche zu den verschiedenen Arten oder Rassen gehören, so kräftig und den Zellen innewohnend sind, dass sie in allem wesentlichen in derselben Weise hervortreten, wenn dieselbe Art in Brauereien mit sehr verschiedenen Verhältnissen verwendet wird. Als eklatantes Beispiel hierzu soll die sog. Carlsberger Rasse No. 1 hervorgehoben werden, welche überall Bier von ganz besonderer Haltbarkeit gegen Hefentrübung giebt. Andere augenfällige Unterschiede bei den Hefenrassen in der Praxis sind ihre Fähigkeit, eine schnellere oder langsamere Klärung, einen stark oder schwach haltenden Schaum am Biere, eine fest- oder loseliegende Schicht am Boden des Gärbottichs, einen hohen oder niedrigen Vergärungsgrad, eine grössere, oder geringere Widerstandsfähigkeit gegen Infektionen verschiedener Art zu geben — alles Eigenschaften, die seit langer Zeit in der Praxis wohl bekannt waren, welche aber erst jetzt im richtigen Verhältnisse zum Spezies charakter

und zur Reinheit der Vegetation erkannt werden konnten.

Hierdurch ist eine bedeutend grössere Sicherheit und Konstanz im Betriebe eingeführt worden.

Da man an den verschiedenen Produktionsorten sehr ungleiche Forderungen für den Verlauf der Gärung und zur endlichen Beschaffenheit des Bieres stellt, so wird, wie vom Capit. Dr. JACOBSEN schon hervorgehoben, dieselbe Hefenrasse nicht überall verwendet werden können. Auf dem eingeschlagenen Wege ist es aber möglich, durch planmässige Versuche die Rasse zu finden, welche sich am besten für die gegebenen Verhältnisse eignet. Ist eine solche gefunden, dann besteht die Arbeit nur darin, dass man jedes Mal, wenn die Hefe ausartet, eine neue Reinkultur derselben Hefe einführt.

Die zahlreichen Versuche mit absolut reiner Oberhefe, welche zum ersten Male in meinem Laboratorium angestellt wurden, haben gezeigt, dass die Entdeckungen HANSENs auch in diesem Zweige der Bierbrauerei ihre grosse Bedeutung haben. Das mit rein kultivierter obergäriger Hefe dargestellte Bier hat einen reineren, süsseren Geschmack und eine viel grössere Haltbarkeit als das gewöhnliche.

Selbstverständlich muss auch hier sorgfältig darüber gewacht werden, dass die Kultur in der Brauerei unter ganz reinlichen Verhältnissen entwickelt wird.

Die Produktion solcher leichten, alkoholarmen, obergärigen und wirklich haltbaren Biersorten hat gewiss in vielen bierbrauenden Ländern eine Zukunft für sich, namentlich wenn das Produkt in der wärmeren Jahreszeit eine bessere Qualität als bisher besitzt. Eine wesentliche Bedingung hierfür ist, nach den eingeholten Erfahrungen, eine reine Anstellhefe, und es wird sicherlich richtiger sein, wie es auch BÊLOHOUBEK für Böhmen hervorhebt, wenn die obergärigen Brauereien, statt teilweise ihren Betrieb für Untergärung einzurichten, eine zeitgemässe Entwickelung ihres Obergärungsbetriebes einführen und dadurch eine wirkliche Verbesserung dieses Produktes erzielen; als Produzenten untergäriger Biere können solche Brauereien in den wenigsten Fällen mit den Grossproduzenten konkurrieren.

Die Frage: Wie lange hält sich eine solche Reinkultur in ihrem ursprünglichen, guten Zustande? — kann im Augenblicke und vielleicht auch künftig nicht mit Sicherheit beantwortet werden. Wie erwähnt, besitzen die Rassen eine verschiedene Widerstandsfähigkeit gegen Infektion; meine Verbindungen mit verschiedenen Brauereien haben doch zugleich gezeigt — was schon erwartet werden konnte —, dass dieselbe Rasse sich nicht in demselben Zeitraume rein und gut in den ungleichen Gärungsräumen erhält, wo sie verwendet wird. Dass die Jahreszeit hier auch eine Rolle spielt, und dass die Periode des Jahres, wo die wilden Hefenpilze sich in grösster Menge in der Luft finden, besonders gefährlich ist, wissen wir. Wie bekannt, kann aber die Infektion auch zu anderen Zeiten des Jahres geschehen, namentlich durch Geräte, Fassgeläger u. s. w. Es ist daher wenig wahrscheinlich, dass diese Frage eine generelle für die Praxis verwendbare Erledigung finden wird. Dies hat aber weniger zu bedeuten, wenn wir daran erinnern, dass die Analyse immer die Ansteckung zeigen kann, lange bevor sie noch gefährlich ist, und dass eine neue Reinkultur derselben Hefe dann rechtzeitig eingeführt werden kann. Das Hauptresultat ist, dass man nun nicht länger aufs Geradewohl zu arbeiten braucht, und nicht wie früher dem Zufalle seine Gärungen zu überlassen genötigt ist.

HANSENs Arbeiten führten bisher nur in der Brauerei zu praktischen Resultaten. Hierdurch ist aber auch der Weg zu einer Reform in der Spiritus- und Presshefefabrikation angezeigt.

Litteratur.

ATKINSON, The chemistry of saké-brewing in Japan, the processes of preparation of Koji and of fermentation of Tokio. 1881.

AUBRY, L., Ein Beitrag zur Klärung und Richtigstellung der Ansichten über reine Hefe. Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. München 1885. Nr. 7.

— Noch ein Wort über die reine Hefe. Ibid. Nr. 12.

BARY, DE, Über Schimmel und Hefe (Samml. gemeinverst. wissenschsftl. Vorträge) 1873.

— Vergleich. Morphologie und Biologie der Pilze, Mycetozoen und Bakterien. Leipz. 1884.

— Vorlesungen über Bakterien. Leipz. 1885.

BÊLOHOUBEK, A., Studien über Presshefe. Prag 1876.

— Über den Einfluss der Hefe auf die Qualität des Bieres und über die Bedeutung der reinen Samenhefe für die Brauindustrie in Böhmen und Mähren. Vortrag. Böhm. Bierbrauer. Prag 1885.

BILLROTH, Untersuchungen über die Vegetationsformen von Coccobacteria septica. 1874.

BLANKENHORN und MORITZ, Unters. über d. Einfluss d. Temperatur auf die Gärung (Ann. d. Oenologie 4 B.) 1874.

BOUTROUX, Sur la fermentation lactique (Comptes rendus T. LXXXVI). 1874.

— Sur l'habitat et la conservation des levures spontanées. Bull. de la soc. Linnéenne de Normandie. 3. Sér. 4 vol.

BREFELD, Botan. Unters. über Schimmelpilze. 1.—4. Heft. Leipz. 1872 f.

— Mucor racemosus und Hefe (Flora, 56. Jahrg.). 1873.

— Über Gärung I, II, III (landw. Jahrb. III, IV, V. Bd.). 1874, 1875, 1876.

— Methoden zur Untersuchung der Pilze. Mediz.-phys. Gesellschaft zu Würzburg. 1874

— Beobachtungen über die Biologie der Hefe (Sitzungsb. d. Ges. naturf. Freunde zu Berlin. Bot. Ztg.). 1875.

— Die Hefepilze. Leipzig 1883.

BREJCHA, Mikrosk. Analyse des Kühlgelägers (Zeitschr. des Brauindustrie-Ver. f. d. K. B.). 1879.

BROWN, HORACE T., and G. H. MORRIS, On the non chrystallisable products of the action of diastase upon starch. (Journal of the chemical society, August 1885.)

COHN, Beiträge zur Biologie der Pflanzen, I. Bd. Heft 1 — 3. II. Bd. Heft 2 (Untersuchungen über Bakterien).

CIENKOWSKI, Die Pilze der Kahmhaut (Bullet. d. Petersburger Akademie). 1873.

— Zur Morphologie der Bakterien. 1877. (Mém. de l'acad. impér. des sc. de St. Petersburg, S. VII. T. XXV.)

— Die Gallertbildungen d. Zuckerrübensaftes. Charkow 1878.

DELBRÜCK, Die Säuerung des Hefengutes. (Zeitschr. für Spiritusindustrie 1881, S. 1, 14, 54, 118.)

— Der Charakter des Bieres, auch des Weissbieres. Wochenschr. f. Brauerei, Berlin 1885, Nr. 6.

— Die Carlsberger reingezüchtete Hefe. Ibid. 1885, Nr. 10.

DOWDESWELL, On the occurrence of variations in the development of a Saccharomyces. Journ. of the R. Micr. Society. London. Ser. II. Vol. V. 1885 p. 16.

DAVID, Über Rotweingärungspilze. Ann. der Oenologie. 4. Bd. 1874.

DUCLAUX, Ferments et Maladies. Paris 1882.

— Mémoire sur la lait. Ann. de l'institut agronomipue. 1882

— Chimie biologuique. Paris 1883.

EIDAM, Der gegenwärtige Standpunkt der Mykologie. 1871, 1872.

ENGEL, Les ferments alcooliques. 1872.

FITZ, Über Schizomyceten-Gärungen. Berichte d. deutschen chem. Gesellschaft, Bd. 9—17. 1876—1884.

FLÜGGE, Fermente und Mikroparasiten. Leipz. 1883.

FRESENIUS, Beiträge zur Mykologie. 1850—1863.

FRIEDLÄNDER, Mikroskopische Technik. Berlin 1884.

GAYON, Faits pour servir a l'histoire physiologique des moisissures (Mém. de la soc. des sciences phys. et naturelles de Bordeaux. 1878.

— Sur un proçédé nouveau d'extraction du sucre des mélasses. (Ann. agronomiques. 1880)

GRAWITZ, Beiträge zur system. Botanik der pflanzlichen Parasiten mit experimentellen Untersuchungen über die durch sie bedingten Krankheiten (VIRCHOWS Archiv Bd. 70. 1877.)

GRÖNLUUD, Über Organismen in der Kühlschiffwürze. Allg. Zeitschr. f. Bierbr. u. Malzf. Wien 1885.

GUILLAUD, Les ferments figurés. 1876.

HABERLANDT, Das Vorkommen und die Entwickelung der sogenannten Milchsäurehefe. Wissensch.-prakt. Untersuchungen auf dem Gebiete des Pflanzenbaues. 1875.

HANSEN, E. CHR., Contributions à la connaissance des organismes qui peuvent se trouver dans la bière et le mout de bière et y vivre. Meddel. fra Carlsberg Laborat. Kjöbenhavn 1879.

— Oidium lactis. Ebenda.

— Saccharomyces colorés en rouge et cellules rouges ressemblant à des Saccharomyces. Ebenda.

HANSEN, E. CHR, Sur l'influence que l'introduction de l'air atmospherique dans le mout qui fermente exerce sur la fermentation. Ebenda.
— Hypothèse de Horvath. Ebenda.
— Mycoderma aceti (Kütz.) Pasteur et Myc. Pasteurianum nov. sp. Ebenda.
— Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques. I. Sur le Sacch. apiculatus et sa circulation dans la nature. Meddel. fra Carlsb. Labor. 1881.
— Chambre humide pour la culture des organismes microscopiques. Ebenda.
— Recherches sur les organismes qui, à différentes époques de l'année, se trouvent dans l'air, à Carlsberg et aux alentours, et qui peuvent se developper dans le moût de bière (II.). Meddel. fra Carlsb. Lab. 1882.
— Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques. II. Les ascospores chez le genre Saccharomyces. III. Sur les Torulas de M. PASTEUR. IV. Maladies provoquées dans la bière par des ferments alcoo liques. Meddel. fra Carlsb. Labor. 1883.
— Recherches sur la physiol. et la morph. etc.: V. Methodes pour obtenir des cultures pures de Saccharomyces et de microorganismes analogues. VI. Les voiles chez le genre Saccharomyces. Meddel. fra Carlsb. Lab. 1886.
— Les champignons stercoraires du Danemark. Résumé d'un mémoire publié dans les „Videnskabel. Meddelelser" de la société d'histoire naturelle de Copenhague. 1876.
— Bemerkungen über Hefenpilze. Allgem. Zeitschr. f. Bierbrauerei und Malzfabrikation. 1883.
— Neue Untersuchungen über Alkoholgärungspilze (Monilia). Ber. d. d. botan. Gesellsch. 1884.
— Einige kritische Bemerkungen über Dr. HUEPPES Buch „Die Methoden der Bakterienforschung". Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie und mikroskopische Technik. 1885. Bd. II.
— Om Renkulturer af Mikroorganismer. Bemaerkninger i Anledning af Dr. SALOMONSENS Bog: „Ledetraad for Medicinere i bakteriologisk Teknik". Nordisk medicinskt Archiv. Bd. XVII. 1885.
— Über das Zählen mikroskopischer Gegenstände in der Botanik. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. I. 1884.
— Über WIESNERS neue Prüfungsmethode der Presshefe (DINGLERS polytechn. Journal 1884).
— Vorläufige Mitteilungen über Gärungspilze. (Gelatin. Netzwerk. — Scheidewandbildung. — Sacch. apiculatus.) Botanisches Centralblatt. Bd. XXI. Nr. 6. 1885.
— Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie. Zeitschr. f. das ges. Brauwesen. 1884.
HARZ, Untersuch. über die Alkohol- und Milchsäuregärung. Z. d. allg. österr. Apotheker-Vereins 1870/71.
— Grundzüge der alkoholischen Gärung. München 1877.
HAYDUCK, Über die Existenz von Hefenrassen mit konstant sich erhaltenden Eigenschaften. Wochenschr. f. Brauerei Nr. 20. Berlin 1885.

Hesse, Über quantitative Bestimmung der in der Luft enthaltenen Mikroorganismen. Mitteil. des K. Gesundheitsamtes. Bd. II. 1884.

Hitschcock, Studies of atmosphérie dust. Amerik. monthly microscop. Journal I. 1880.

Holm et Poulsen, Jusqu'a quelle limite peut-on, par la methode de M. Hansen, constater une infection de „levûre sauvage" dans une masse de levûre basse de Saccharomyces cerevisiae? Meddel. fra Carlsberg Laboratoriet 2. B. 4. H. 1886.

Horvath, Über den Einfluss der Ruhe und der Bewegung auf das Leben. Pflügers Archiv für die gesamte Physiologie, Bd. 17. 1878.

Hueppe, F., Untersuchungen über die Zersetzungen der Milch durch Mikroorganismen. Mitt. d. K. Gesundheitsamtes. Bd. II. 1884.

— Die Methoden der Bakterienforschung. 1886.

Huth, S. v., Über Sarcina. Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei und Malzfabrikation. 1885, 1886.

Jacobsen, J. C., Über die Carlsberger reingezüchtete Hefe. Wochenschr. für Brauerei Nr. 10. Berlin 1885.

— — Die Reinzüchtung von Brauereihefe. Zeitschr. für das ges. Brauwesen. Nr. 6. München 1885.

Jörgensen, Alfred, Zur Analyse der Presshefe. Dinglers polytechn. Journal. 1884. Bd. 252, S. 424.

— — Über die Entwickelung der Gärungsphysiologie in den letzten Jahren mit spezieller Berücksichtigung der Brauindustrie, Allg. Brauer- u. Hopfenzeitung. Nr. 2, 3, 4. Nürnberg 1885.

— — Über das Verhältnis der Alkohol-Fermentorganismen gegenüber der Saccharose. Ibid. 1885, Nr. 20.

— — Giebt es verschiedene Rassen der sogenannten Saccharomyces cerevisiae? Ibid. 1885, Festnummer.

— — Vorläufiger Bericht über Versuche im grossen mit absolut reiner Oberhefe, nach Hansens Methode dargestellt. Allg. Zeitschr. für Bierbr. und Malzfabr. Wien 1885. Nr. 36.

— — Reingezüchtete Oberhefe. Allg. Brauer- und Hopfenzeitg. 1886. Nr. 8.

— — Ein Beitrag zur Präzisierung der Hefenfrage. I—II. Allg. Zeitschr. für Bierbr. u. Malzfabr. Wien 1885.

— — Om Gjaeringsphysiologiens Udvikling i de senere Aar, saerligt med Hensyn til Ölgjaeringsindustrien. Teknisk Tidskrift. Stockholm 1885.

Kern, Über ein Milchferment des Kaukasus. Bot. Zeitg. 1882, Biolog. Centralblatt 1882.

Klein, E., Micro-organisms and disease. London 1884.

Knierim, W. v. und Ad. Mayer, Über die Ursache der Essiggärung. Die landw. Versuchsstat. Bd. XVI. 1873.

Klebs, J., Über fraktionierte Kultur. Archiv f. experim. Pathologie. Bd. I.

Koch, R., Verfahren zur Untersuchung, zum Konservieren und Photographieren d. Bakterien. Beitr. z. Biol. II.

— Über Desinfektion. Mitteil. d. K. Gesundheitsamtes. 1881.

Koch, R., Zur Untersuchung von pathogenen Organismen. Mitteil. des Kais. Gesundheitsamtes. Bd. I. Berlin 1881.

Krasser, Über das angebliche Vorkommen eines Zellkerns in den Hefezellen. Österr. bot. Zeitschr. 1885. Nr. 11).

Lintner, C., Lehrbuch der Bierbrauerei. 1878.

— Zymotechnische Rückblicke auf das Jahr 1884. Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. München 1885. S. 399.

Laurent, C., La Bactérie de la Fermentation panaire. Bulletin de l'Académie royale de Belgique, t. X. Nr. 12. 1885.

Maercker, M., Handbuch der Spiritusfabrikation.

Magnin, A., Les bactéries. Paris 1878.

Marpmann, G., Die Spaltpilze. Halle 1884.

Marx, L., La levure pure de brasserie. Revue universelle de la brasserie et la malterie. 1885. Nr. 622.

Matthews, On the red mould of barley. Journal of the Royal microscop. soc. London 1883.

Mayer, A., Lehrbuch der Gärungschemie.

— Die Lehre von den chem. Fermenten. Heidelberg 1882.

Miflet, Untersuchungen über die in der Luft suspendierten Bakterien. Beiträge zur Biologie der Pflanzen. 3 Bd. 1879.

Miquel, Études sur les poussières organisées de l'atmosphère. Annuaire de l'observatoire de Montsouris pour l'an 1879.

— Nouvelles recherches sur les poussières organisées de l'atmosphère. Annuaire de l'obs. de Montsouris pour l'an 1880.

— Étude générale sur les bactéries de l'atmosphère. Extrait de l'annuaire de Montsouris pour l'an 1881.

— Études générales des bactéries des l'atmosphère. Ann. de l'obs. de Montsouris pour l'an 1882.

— Des organismes vivants de l'atmosphère. Paris 1883.

Münz, Recherches sur les fonctions des Champignons. Compt. rend. hebd. des séanc. de l'ac. d. sc. T. 80. 1875.

— Die niederen Pilze in ihren Beziehungen zu den Infektionskrankheiten. München 1877.

Nägeli, Theorie der Gärung. 1879.

— Über die Bewegungen kleinster Körperchen. Sitzungsb. d. math.-phys. Klasse der Akad. d. Wissensch. München 1879.

— Untersuchungen über niedere Pilze. München 1882.

Pasteur, Études sur le vin. 1866.

— Études sur la vinaigre. 1868.

— Études sur la bière. 1876.

— Note sur la fermentation des fruits et sur la diffusion des germes des levûres alcooliques. Comptes rendus, T. 83, 1876, p. 173.

— Examen critiques d'un écrit posthume de Claude Bernard sur la fermentation alcoolique. Lecture faite à l'Académie de Médecine le 26. Novbre 1878.

PEDERSEN, R., Recherches sur quelques facteurs, que ont de l'influence sur la propagation de la levûre basse du Sacch. cerevisiae. Meddel. fra Carlsb. Laborat. 1878.

— Sur l'influence, que l'introduction de l'air atmospherique dans le mout qui fermente exerce sur la fermentation. Meddel. fra Carlsb. Labor. 1878.

PRAZMOWSKI, Untersuchungen über die Entwickelungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bakteriumarten. Leipzig 1880. (Clostr. butyric.)

REESS, Botan. Untersuchungen über die Alkoholgärungspilze. 1870.

— Über den Soorpilz. Sitzungsber. der physikal.-med. Societät Erlangen. Bot. Zeitg. 1878.

REINKE, Über Sarcina. Wochenschr. für Brauerei. 1885, 1886.

RICHET, De quelques conditions de la fermentations lactique. Comptes rend. hebdom. 1879. Bd. 88.

SALOMONSEN, C. J., Eine einfache Methode zur Reinkultur verschiedener Fäulnisbakterien. Botan. Zeitg. 1880, Nr. 26.

— Ledetraad for Medicinere i bakteriologisk Teknik. Stockholm 1885.

SCHMITZ, Resultate der Untersuchungen über die Zellkerne der Thallophyten. Separat-Abdruck d. Sitzungsb. der niederrhein. Ges. f. Natur- u. Heilkunde. Bonn 1879. S. 18.

SCHÜRZENBERGER, Die Gärungserscheinungen. Leipzig 1876.

SCHUMACHER, Beiträge zur Morphologie und Biologie der Hefe. Sitzungsber. d. K. K. Akad. d. Wiss. Wien 1874.

SEYNES, J. DE, Sur le mycoderma vini. Comptes rendus hebd., T. LXVII. 1868. Ann. d. sc. nat. Botanique V. Série X. 1869.

SOYKA, Über den Übergang von Spaltpilzen in der Luft. Sitzungsb. der math.-phys. Klasse der Akademie der Wissensch. zu München. Bd. IX. 1879.

THAUSING, Die Theorie und Praxis der Malzbereitung und Bierfabrikation Leipzig 1882.

— Über reingezüchtete Hefe. Allg. Zeitschr. f. Bierbr. und Malzfabrik. S. 755. Wien 1885.

TIEGHEM, PH VAN, Sur le Bacillus Amylobacter et son rôle dans la putrefaction des tissus végétaux. Bull. de la soc. bot. de France. 1877.

— Premier mémoire sur les mucorinées,

— Second mémoire sur les mucorinées.

— Troisième mémoire sur les mucorinées. Ann. d. sc. nat. Bot. Sér. VI. T. IV. 1878.

— Leuconostoc mesenterioides. Ann. d. sc. nat. Sèr. VI. T. 7.

TRAUBE, Theorie der Fermentwirkungen. Berlin 1858. Ber. d. d. chem. Ges. 1874. 1876.

TYNDALL, Essays on the floating matter in the air in relation to putrefaction and infection. London 1881.

— Further researches on the deportment and vital persist. of putrefact. and infect. organisms. London 1877—78.

WARMING, Om nogle ved Danmarks Kyster levende Bakterier, Kjöbenhavn 1876.

WIESNER, Untersuchungen über den Einfluss, welchen Zufuhr und Entziehung

von Wasser auf den Hefenzellen äussern. Sitzungsb. der Wiener Akademie. 1869. Bd. 59.

Wiesner, Bedeutung der techn. Rohstofflehre (techn. Waarenkunde) als selbstständiger Disciplin und über deren Behandlung als Lehrgegenstand an techn Hochschulen. Dinglers polytechn. Journal, Bd. 237. 1880.

Will, H., Wie wird reine Hefe gezüchtet? Zeitschrift für das ges. Brauwesen. Nr. 9. München 1885.

— — Über einige für die Brauindustrie wichtige Hefenarten und deren Unterscheidungsmerkmale. Allg. Brauer- und Hopfenzeitung. 1885. Festnummer.

Winogradsky, Über die Wirkung äusserer Einflüsse auf die Entwickelung von Mycoderma vini. Bot. Centralblatt 1884, XX. Bd. S. 165.

Wortmann, Unters. über das diastat. Ferment d. Bakterien. Zeitschr. f. phys. Chemie. Bd. VI. 1882.

Yung, Des poussières organisées de l'atmosphère. Archives des sciences physiques et naturelles. T. IV. Genève 1880.

Zalewsky, Über Sporenbildung in Hefezellen. Verhandl. und Berichte der Krakauer Akad. der Wissensch. Math.-naturw. Section. I. Bd. XII. 1885. Ref. Bot. Centralblatt Bd. XXV, S. 1.

Zopf, W., Entwickelungsgesch. Unters. über Chrenothrix polyspora. Berlin 1879.

— Über den genetischen Zusammenhang der Spaltpilzformen. Sitzungsber. der Berl. Akad. d. Wiss. 1881.

— Zur Morphologie der Spaltpflanzen. Leipz. 1882.

— Über Bacterium merismopedioides. Sitzungsb. des bot. Vereins der Provinz Brandenburg. Juni 1882.

— Die Spaltpilze. 3. Ausg. Breslau 1885.

Druck von Gebr. Unger in Berlin, Schönebergerstr. 17a.

Verlag von PAUL PAREY in Berlin SW., Wilhelmstrasse 32.

Handbuch der Spiritusfabrikation

von

Dr. **Max Maercker,**

Vorsteher der Versuchsstation und Professor an der Universität Halle a. S.

Vierte, vollständig umgearbeitete Auflage.

Mit 234 in den Text gedruckten Abbildungen.

Preis 20 M. Gebunden 22 M. 50 Pf.

Handbuch der Zuckerfabrikation

von

Dr. **F. Stohmann.**

Professor an der Universität Leipzig.

Zweite, umgearbeitete Auflage.

Mit 132 in den Text gedruckten Holzschnitten und 4 Tafeln.

Gebunden, Preis 18 M.

Handbuch der Kellerwirtschaft.

Bearbeitet von

Frhr. von Babo, Direktor d. ...bau-Lehranstalt i. Klosterneuburg. und **E. Mach,** Direktor der Lehranstalt in San Michele.

Zweite, neubearbeitete Auflage.

Mit 214 in den Text gedruckten Holzschnitten.

Gebunden, Preis 20 M.

Gärungs-Chemie für Praktiker.

Von

Dr. Joseph Bersch.

I. **Die Hefe**

und die Gärungs-Erscheinungen.

Mit 75 in den Text gedr. Holzschnitten.

Preis 8 M.

II. **Malzfabrikation**

einschl. Malzextrakt und Dextrin.

Mit 121 in den Text gedr. Holzschnitten.

Preis 8 M.

III. **Bierbrauerei.**

Mit 160 in den Text gedr. Holzschnitten.

Preis 12 M.

IV. **Spiritusfabrikation**

und Presshefebereitung.

Mit 126 in den Text gedr. Holzschnitten.

Preis 12 M.

V. **Essigfabrikation.**

Mit 50 in den Text gedr. Holzschnitten.

Preis 8 M.

Stengleins Mikrophotogramme

zum Studium der angewandten Naturwissenschaften.

Preis pro Mikrophotogramm 1 M. 50 Pf.

Die Ausgabe erfolgt in Lieferungen von zwölf Nummern im Preise von 18 M.

Lieferung 1 hat folgenden Inhalt:

Os frontis (Stirnbein). Homo). — Mucor mucedo. — Puccinia graminis (Grasrost). — Arachnoidiscus ornatus. Ehrb. — Rumex Patientia (Drüsenzotte). — Fälschung von Weizenmehl mit Kreide. — Lycopodium complanatum (Längsschnitt). — Pinus silvestris (Längsschnitt durch Cambium). — Oidium albicans (Soor) Reinkultur. — Leptothrix buchalis Robin. — Komma-Bacillus der Cholera asiatica. — Bacillus Anthracis (Milzbrand).

Zu beziehen durch jede Buchhandlung.